



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**VALOR ADAPTATIVO DE LA PLASTICIDAD FENOTÍPICA
DE *Datura stramonium* EN RESPUESTA A LA VARIACIÓN
DE GRANO FINO Y GRUESO EN LA DISPONIBILIDAD DE
AGUA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

BIÓL. IVÁN DARÍO CAMARGO RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. JUAN NÚÑEZ FARFÁN

MÉXICO, D.F.

JUNIO 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Por el apoyo brindado en mi formación académica:

Al Posgrado en Ciencias Biológicas

Por la financiación para llevar a cabo mis estudios de maestría:

A la Dirección General de Estudios de Posgrado

Por su apoyo y oportuno seguimiento de mi investigación

Al Comité tutorial:

**María del Rocío Cruz Ortega
Erick De la Barrera Montppellier
Juan Núñez Farfán**

AGRADECIMIENTOS

Por unas características excepcionales en la asesoría de científicos jóvenes como el libre desarrollo de las ideas, el soporte en las decisiones tomadas y una crítica constructiva a las mismas:

A Juan

Por una discusión crítica de las ideas aquí empleadas:

A Carl Schlichting

Por la discusión de varios tópicos ecofisiológicos en la materia Perspectivas en Ecofisiología Vegetal:

A Erick De la Barrera

Por sus comentarios amables y oportunos:

A Rocío Cruz

Por sugerirme el material biológico del laboratorio de Genética Ecológica y Evolución para el desarrollo de mi investigación:

A Rafael Bello

Por la diligencia en todas las necesidades operativas de este estudio:

A Rosalinda Tapia López

Por su ayuda en los momentos críticos de la toma de datos y su compañía en todos los momentos en el laboratorio:

A Edson Sandoval,

A mis **compañeros** del Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución

Por entender y aceptar todo el tiempo que hemos dejado de compartir y ayudarme en múltiples instancias logísticas de este trabajo. Por ser el complemento de mi otra esfera personal y acompañarme en el quehacer científico, por reír conmigo, tolerar y por desear que unamos nuestras vidas en lo que les resta...

A mí amada compañera, **Lily.**

Esta tesis está dedicada a Pedro y Virginia,
.... que la vida les alcance....

CONTENIDO

RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
MÉTODOS	12
Sistema de estudio	12
<i>Plantas</i>	13
Establecimiento de tratamientos	13
<i>Control de la disponibilidad de agua</i>	15
Análisis de datos	17
<i>Plasticidad fenotípica</i>	17
<i>Selección fenotípica</i>	18
<i>Integración fenotípica</i>	19
RESULTADOS	23
Plasticidad fenotípica	23
Selección fenotípica	26
Integración fenotípica	27
DISCUSIÓN	29
Respuestas plásticas en ambientes cambiantes	29
Selección fenotípica	30
Selección e Integración fenotípica	32
<i>Estrés e integración fenotípica</i>	33
<i>Evolución en ambientes cambiantes: nuevos ambientes</i>	35
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	37
LITERATURA CITADA	51

LISTA DE TABLAS

Tabla		Pág.
1	Valores promedio en los seis tratamientos, error estándar en paréntesis. Los valores debajo de los tratamientos indican el número de individuos muestreados.	38
2	Resultados del ANOVA general para cada uno de los caracteres. Los números debajo de cada fuente de variación son los grados de libertad. Se reportan los cuadrados medios y la probabilidad asociada en paréntesis. Siempre que la covariable (volumen) no fue significativa se reportan los resultados del análisis sin incluirla.	39
3	Resultados del ANOVA específico para cada uno de los caracteres. Los números debajo de cada fuente de variación son los grados de libertad. Se reportan los cuadrados medios. Siempre que la covariable (volumen) no dio significativa se reportan los resultados del análisis sin la misma.	40
4	Plasticidad (IP) de los caracteres arquitecturales y la adecuación en plantas de <i>Datura stramonium</i> sometidas a diferentes disponibilidades de agua durante la ontogenia. Coeficientes de variación para los genotipos utilizados en paréntesis. Los signos de los valores promedio de plasticidad indican la tendencia general de la respuesta.	41
5	Selección de la plasticidad fenotípica en ambientes con variación de grano fino y grueso en la disponibilidad de agua en el suelo en <i>Datura stramonium</i> . Análisis de regresión lineal múltiple de la adecuación (estimada como el número de semillas) como función de los caracteres medidos. Se presentan los gradientes de selección direccional lineal (β) significativos para cada tratamiento, la t de student es reportada. Resaltados se encuentran los caracteres que poseen plasticidad fenotípica (cf. Tabla 3). La varianza (r^2), valores de F y probabilidad asociada para los modelos de regresión múltiple en los diferentes ambientes fue: Alto = 0.53 ($F = 5.55$, $P < 0.0001$); Bajo = 0.71 ($F = 9.41$ $P < 0001$); Alto-Bajo temprano = 0.33 ($F = 1.64$, $P = 0.1480$); Alto-Bajo tarde = 0.72 ($F = 5.7$, $P = 0.0006$); Bajo-Alto temprano = 0.63 ($F = 5.26$, $P = 0.0003$); Bajo-Alto tarde = 0.63 ($F = 4.83$, $P = 0.0008$).	42
6	Análisis de componentes principales comunes. Descomposición de Flury para identificar el mejor modelo que describe la relación entre la estructura de los componentes principales de cada comparación ambiental. La tabla presenta una serie jerárquica de pruebas de hipótesis, el mejor modelo (resaltado) entre los cinco componentes probados corresponde al menor valor del criterio de Akaike (AIC). Se reportan los grados de libertad (g.l.) asociados a cada modelo y los tres primeros componentes por simplicidad.	43

LISTA DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Normas de reacción ocultas (“hidden reaction norms”): posible relación entre la expresión de un carácter en ambientes comunes (normal) o nuevos. Obsérvese el aumento de la varianza fenotípica en nuevos ambientes. Las zonas de tensión hacen referencia a la ocurrencia de condiciones ambientales a una frecuencia que representa una frontera donde el costo / beneficio de expresar esta respuesta (plasticidad) es cercano a 1. Los ambientes nuevos pueden ser condiciones ambientales en las cuales se expusieron los organismos en una etapa temprana de la ontogenia y se miden sus respuestas en una etapa tardía, contrastándose con las condiciones normales o que no han sufrido perturbación, en cuyo caso la norma de reacción se ha denominado “impresa” (Sultan & Stearns 2005). Cada línea representa un genotipo. Modificado de Schlichting (2008).	44
2	Esquematación del modelo arquitectural de Lewenberg en <i>Datura stramonium</i> . Dos metámeros constituyen un módulo. Los metámeros se ramifican dicotómicamente a lo largo de la altura de la planta. Al final de cada metámero y justo en la bifurcación de un nuevo módulo se produce una flor, en la figura se encuentran indicadas la primera y cuarta flor, las cuáles representan el final del crecimiento del primer (metámero basal) y cuarto metámero. La corona la constituyen todos los módulos que pueda formar una planta a lo largo de su ontogenia sin incluir el metámero basal. El modo de construcción del modelo implica una inversión simultánea a las estrategias de reproducción y crecimiento.	45
3	Condiciones climatológicas de los sitios de origen para los genotipos utilizados en este estudio, la muestra total estuvo constituida por cuatro genotipos de cada condición ambiental. En la esquina superior izquierda de cada sitio se reporta la media de temperatura y precipitación anual. Datos de la Comisión Nacional del Agua.	46
4	Seis tratamientos de disponibilidad de agua utilizados a lo largo de la ontogenia de plantas de <i>Datura stramonium</i> . Las plantas fueron sometidas a dos ambientes de grano grueso (Alto y Bajo) para la disponibilidad del recurso durante toda la vida y a cambios recíprocos de disponibilidad a partir de estos ambientes en dos momentos de la ontogenia (<i>i.e.</i> , t_1 = primera flor, t_2 = cuarta flor), generando así cuatro ambientes de grano fino (<i>i.e.</i> , Alto-Bajo temprano, Alto-Bajo tarde, Bajo-Alto temprano, Bajo-Alto tarde).	47

- 5 Modelo analítico de ruta usado para ajustar los datos en los seis tratamientos. El modelo es basado en la regla de Corner conocida como *conformidad axial* en la cual entre más grueso y masivo es el diámetro del metámero basal más grande es la corona que puede soportar y en el impedimento de que caracteres ontogenéticamente más jóvenes sean afectados por caracteres expresados más tarde en la ontogenia. Raíz = masa seca de raíz, Área = área de la corona, Diámetro = diámetro del metámero basal, Altura = altura del metámero basal, Longitud total metámeros = longitud total de los metámeros de la corona, Tallo = masa seca del tallo, Semillas = No. de semillas. Los coeficientes de ruta están indicados con P_i , la varianza debida al error no es incluida por simplicidad (se tuvo en cuenta que todas las variables fueron medidas con error). 48
- 6 Normas de reacción para los caracteres en los diferentes tratamientos. Cada línea representa la media del carácter de un genotipo de *Datura stramonium* en cada ambiente. En línea azul están representados los cambios tardíos en la ontogenia. En la esquina superior derecha se reporta la leyenda de cada genotipo, P_i = Patria Nueva, S_i = Santo Domingo. 49
- 7 Coeficientes de ruta estimados para cada tratamiento según la hipótesis causal utilizada. Resaltados se encuentran los coeficientes con valores mayores a 0.4 que resultaron significativo ($P < 0.05$). 50

Resumen

Se ha sugerido que la adecuación individual es influenciada en mayor medida por la plasticidad fenotípica en etapas tempranas de la ontogenia en las cuales los organismos son más susceptibles de ser afectados por el ambiente. A su vez, la expresión de plasticidad ha sido frecuentemente relacionada a la cantidad de integración fenotípica: una mayor integración reduce la expresión de plasticidad en un organismo. Plantas de *Datura stramonium* fueron expuestas a alta y baja disponibilidad de agua en el suelo y a cambios recíprocos de mencionada disponibilidad en la ontogenia temprana y tardía, con el fin de poner a prueba la hipótesis de que la variación en el grano ambiental a lo largo de la ontogenia favorece incrementos en la adecuación mediados por plasticidad de caracteres arquitecturales. Análisis de selección fenotípica y un análisis de ruta fueron empleados para cuantificar la naturaleza adaptativa e integración de las respuestas plásticas observadas. En general, se observaron incrementos de la adecuación en plantas que sufren cambios que ocurren temprano y tarde en la ontogenia (grano fino) por encima de plantas que viven sin experimentar alguna perturbación ambiental (grano grueso). Caracteres como la biomasa del tallo y el área de la corona presentaron gradientes de selección direccional significativos para los cambios que ocurrieron en etapas tardías de la ontogenia; la acción de la selección en estos ambientes estuvo ligada a variación genética para la plasticidad y a una menor integración. Los resultados apoyan la hipótesis de que la plasticidad en ambientes de grano fino puede ser seleccionada incrementando la adecuación.

Abstract

It has been suggested that relative fitness is affected much more strongly by the phenotypic plasticity in early (in contrast to late) stages of the ontogeny, because plasticity is more plausible to occur in early ontogenetic stages. Moreover, the expression of phenotypic plasticity has been frequently related to phenotypic integration, implying that the highest the integration the lowest the plasticity would be. Plants of *Datura stramonium* were exposed to low- and high-soil water availability and to reciprocal changes in these environments in the early and late ontogeny. This was accomplished with the aim to test if variation in the environmental grain throughout the ontogeny favors increments in fitness by means of architectural phenotypic plasticity. Phenotypic selection and path analyses were performed to quantify the adaptive nature and integration of observed plastic responses. In general, it was observed higher fitness increments in plants that suffered changes in water availability throughout the ontogeny, than plants that did not suffer a change in the water status. Characters like shoot biomass and crown area showed positive lineal selection gradients when occurred late stage in the ontogeny; the action of selection at this stage was linked to higher genetic variation for plasticity and to a lower integration. The results support the hypothesis that the plasticity in fine grain environments can be selected allowing increases in fitness.

INTRODUCCIÓN

En plantas, las diferencias fenotípicas expresadas en la edad reproductiva son el resultado de decisiones tempranas durante su ontogenia. Por lo tanto, la adecuación individual podría ser influenciada preponderadamente por el ambiente experimentado por el individuo en una etapa temprana de su desarrollo, que por las condiciones encontradas en la fase adulta (Gedroc *et al.* 1996, Schlichting & Pigliucci 1998, Pigliucci 2001). Los cambios de un comportamiento plástico a un comportamiento estático o a una reducción significativa de la plasticidad (*i.e.*, la expresión diferencial de un fenotipo por parte de un genotipo en un gradiente ambiental, Pigliucci 2001) durante el desarrollo, sugieren la existencia de *ventanas de plasticidad* (Pigliucci 2001). Estas ventanas de plasticidad en caracteres morfológicos y fisiológicos pueden contribuir a amortiguar la plasticidad en la adecuación (Sultan 2001) o aumentarla, favoreciendo un incremento promedio de la misma (Alpert & Simms 2002, Richards *et al.* 2006) si la plasticidad resultase adaptativa.

Una norma de reacción, en adecuación invariante, es indicativa de ajuste en caracteres fisiológicos y morfológicos para amortiguar efectos de la variación ambiental; estudios empíricos han documentado en especies generalistas el mantenimiento de la adecuación en ambientes pobres y su incremento en ambientes ricos favorables (Sultan 2001, Heschel *et al.* 2004). No obstante, también se ha documentado que existen especies que no incrementan su adecuación en los ambientes ricos. De esta forma, se esperaría que en ciertos ambientes la plasticidad sea *selectivamente neutra* mientras que en otros podría ser adaptativa o aún mal adaptativa. Así, la diferenciación fenotípica es el resultado del efecto conjunto de la adaptación local y la plasticidad fenotípica (Donohue *et al.* 2001).

En la búsqueda de explicaciones para entender cómo la naturaleza de la variación afecta el proceso adaptativo, teóricamente se ha mostrado que la respuesta óptima no dependería tan solo de la adecuación en cada ambiente sino también en los patrones de ocurrencia de la variación ambiental y la habilidad del organismo para responder a tales cambios (Levins 1962,

1968). Por lo tanto, el análisis de la variación ambiental es relevante en la búsqueda de respuestas adaptativas de los organismos.

Levins (1968) identificó tres aspectos de la variación ambiental: frecuencia, probabilidad condicional y el “grano”. La frecuencia es la ocurrencia relativa de un ambiente dado, si es raro o común. La probabilidad condicional se refiere a la habilidad de un organismo para anticipar un cambio ambiental dado. El *grano* de un factor ambiental se refiere al número de diferentes estados del ambiente y su variación que un organismo puede encontrar durante su vida. Si un componente ambiental particular es estable en un largo periodo de tiempo de tal forma que el organismo solo experimente dicho estado (*e.g.*, alta o baja disponibilidad de agua), el factor ambiental se dice es de “*grano grueso*” (*coarse-grained* en inglés). Si el factor ambiental es constante sobre sólo un corto periodo de tiempo o es efímero, entonces el organismo probablemente encuentre diferentes estados del factor en su vida y el ambiente es considerado de “*grano fino*” (*fine-grained* en inglés) (Engelman & Schlichting 2005). Por ejemplo, factores ambientales como la humedad del suelo varían en alguna extensión en todos los hábitats méxicos (Heschel *et al.* 2004), pero la magnitud y patrón de variación temporal pueden diferir entre sitios. En tales casos los genotipos de todas las poblaciones posiblemente muestren plasticidad adaptativa, pero podrían diferir genéticamente en la cantidad y patrón de plasticidad expresado (Scheiner & Callahan 1999).

Si el intervalo de tiempo durante la ontogenia en el cual los organismos experimentan diferentes ambientes es determinante para la expresión de la plasticidad del fenotipo en un determinado momento (Pigliucci 2001), esto tendría consecuencias para la variación de la plasticidad y en la respuesta de caracteres plásticos a la selección (Schlichting y Pigliucci 1998, Pigliucci 2001). Una respuesta plástica dinámica a través de la ontogenia podría ser selectivamente ventajosa bajo condiciones más variables (Via & Lande 1985, Moran 1992), en parte a causa de que la plasticidad fenotípica puede favorecer las condiciones conducentes a reproducción como a tolerar el estrés (Sultan 2001). Qué tanto potencial adaptativo tengan estas respuestas plásticas dependerá en gran medida del grado de integración del organismo y

de cómo éste percibe los ambientes a lo largo de la ontogenia. En general se ha sugerido que un mayor estrés favorece la integración (Schlichting 1986), mientras condiciones favorables o ambientes nuevos aumentarían el grado de desintegración del organismo. Una mayor desintegración favorecería la acción de la selección por la exposición de una mayor variación fenotípica (Schlichting 2008).

A pesar de la importancia de la variación ambiental y sus efectos en la adecuación, existe muy poca investigación empírica que compare las respuestas a la variación de grano grueso y fino (Engelman & Schlichting 2005). Un marco conceptual para realizar esta aproximación lo constituyen las normas de reacción ocultas (hidden reaction norms en inglés; *i.e.*, la representación del grado de plasticidad de un genotipo en un gradiente ambiental donde se presentan ambientes nuevos -Figura 1, Schlichting 2008); concepto que emerge de la noción que porciones de variación no expresada serían reveladas después de cambios ambientales, estos cambios puede ser interna o externamente impuestos (Schlichting 2008). Estas mismas normas de reacción han recibido el nombre de “impresas” (“imprinted” en inglés, Sultan & Stearns 2005) y para estudiar sus efectos o “revelarlas” se pueden exponer organismos a una serie de condiciones de un factor ambiental temprano en la ontogenia y entonces medir la respuesta en condiciones ambientales tarde en la ontogenia.

En plantas anuales la producción de semillas es especialmente crítica para la adecuación (Bazzaz & Morse 1991), la dinámica poblacional (Symonides 1988) y su propagación como malezas (Cousens & Mortimer 1995). Sin embargo, aún existe poca información disponible respecto a la influencia potencial de la arquitectura *per se* (además del bien documentado efecto del tamaño y masa) sobre la adecuación de plantas anuales. Caracteres como el número de ramas y la longitud de las ramas pueden ser analizados alométricamente (Niklas 1994) o ser escalados (*i.e.*, estrechamente relacionados) con el tamaño de la planta, si estos caracteres permanecen significativamente ligados a la producción de semillas, entonces la arquitectura puede estar determinando la adecuación por encima y más allá que su simple correlación con las medidas de tamaño (Cheplick 2002). La arquitectura se considera muy plástica debido a su papel en la

captación óptima de recursos. Por ejemplo, un incremento en la longitud de las ramas y un aumento de la asignación a los tallos en ambientes con baja disponibilidad de agua favorece que las plantas puedan crecer más que sus vecinos para captar más luz (Ryser & Eck 2000)

El sistema de estudio empleado para analizar el efecto de la variación de grano fino y grueso durante la ontogenia y su efecto en la arquitectura es la planta anual *Datura stramonium* (Solanaceae), excelente sujeto de estudio debido a su particular modelo arquitectural. La especie posee el modelo arquitectural de Lewenberg (Hálle *et al.* 1978). Este modelo consiste de módulos equivalentes ortotrópicos (*i.e.*, metámeros), cada uno de los cuales es determinado en su crecimiento por la producción final de una inflorescencia terminal (Figura 2). Una característica de este modelo arquitectónico en plantas es la reducción de la longitud y el diámetro primario de los ejes sucesivos. La progresiva disminución de la longitud de cada modulo y el diámetro primario esta correlacionado con una disminución proporcional en el tamaño de la hoja (Hallé *et al.* 1978). Este modelo es muy susceptible a la variación ambiental. Por ejemplo, un incremento de la actividad meristemática en alta disponibilidad de agua, es expresado en un incremento de la producción foliar con una mayor superficie que debe ser irrigada por translocación de agua y vaciada de fotoasimilados. Para incrementar el transporte sobre la sección vertical, las plantas deben incrementar el diámetro primario, pero la longitud del internodo debe decrecer para mantener igual su volumen y retener así las relaciones superficie/volumen (Hallé *et al.* 1978). Si otro parámetro cambia primero por una perturbación ambiental (*e.g.*, un decrecimiento en la longitud del internodo), el diámetro primario del eje, la superficie foliar y la tasa de actividad meristemática, serán ajustadas a esta nueva condición (Hálle *et al.* 1978, revisado en Barthélemy & Caraglio 2007).

Se ha argumentado que las respuestas plásticas arquitecturales son llamadas adaptativas con base en argumentos de plausibilidad en vez de poner a prueba su naturaleza adaptativa (Cheplick 2002, Gianoli & González-Teuber 2005). En este estudio se puso a prueba la hipótesis que ambientes de grano grueso favorecerían la expresión de una mayor integración mientras

ambientes de grano fino (*i.e.*, nuevos) a lo largo de la ontogenia, favorecen una menor integración y por ende la expresión de una mayor plasticidad, esta variación oculta es seleccionada y favorece incrementos de la adecuación por encima de los esperados en ambientes de grano grueso. Para lo anterior, se examinaron los patrones de algunas respuestas arquitecturales a la variación en la disponibilidad de agua en ocho genotipos de *Datura stramonium* que habitan regímenes contrastantes de humedad. Se manipuló experimentalmente, en condiciones controladas, la humedad del suelo y el tiempo de exposición de las plantas antes de sufrir una perturbación (*i.e.*, cambio de condiciones de humedad), lo que generó diferentes granos ambientales, con los objetivos específicos de:

(1) Determinar el grado de plasticidad de la arquitectura de plantas expuestas a grano grueso y fino en la disponibilidad de agua.

(2) Evaluar el grado de asociación entre la variación fenotípica arquitectural observada debida a una respuesta plástica y la adecuación observada de plantas expuestas a grano grueso y fino en la disponibilidad de agua.

(3) Determinar la flexibilidad del grado de integración fenotípica de las plantas expuestas a grano grueso y fino en la disponibilidad de agua y su relación con la plasticidad observada.

MÉTODOS

Sistema de estudio

D. stramonium (Solanaceae) es una hierba anual erecta que puede alcanzar hasta 2 m de altura con propagación exclusiva por semillas. Esta hierba posee el modelo arquitectural de Lewenberg (Figura 2, Hálle *et al.* 1978). Este modelo consiste de módulos equivalentes ortotrópicos los cuales se ramifican dicotómicamente, cada módulo es determinado en su crecimiento por la producción final de una inflorescencia terminal. Una característica de este modelo es el decrecimiento en la longitud y el diámetro primario de los ejes sucesivos. La progresiva disminución de la longitud y el diámetro primario del modulo esta correlacionada con una disminución proporcional en el tamaño de la hoja (Hallé *et al.* 1978). Las hojas son grandes de bordes irregularmente dentados, color verde oscuro y con pecíolos muy grandes. Sus flores son tubulares, de color violáceo o blanco, su fruto es una capsula espinosa dehiscente (en cuatro valvas) y con muchas semillas oscuras reniformes (Núñez-Farfán 1991).

Al momento de la producción de la primera yema floral, se origina también la primera ramificación de la planta una vez que se ha formado entre el sexto al octavo primordio foliar (Weaver & Warwick 1984). Las flores permanecen abiertas por un día y la dehiscencia de las anteras ocurre antes de la antesis. La especie es autocompatible y por tanto las semillas se originan principalmente por autopolinización (Weaver & Warwick 1984). Se han reportado abejas y esfíngidos (Sharma 1972, Grant & Grant 1983) como visitantes de las flores de *D. stramonium* para coleccionar néctar y polen respectivamente; sin embargo, se ha concluido que las características florales de la especie están adaptadas a la polinización por esfíngidos (Grant & Grant 1983).

Las altas tasas de crecimiento de *D. stramonium* (Weaver & Warwick 1984) y el origen de las flores en las bifurcaciones del tallo pueden explicar la reproducción temprana de la hierba (primer mes). Debido a su crecimiento indeterminado el periodo reproductivo se extiende hasta

la senescencia, pudiendo producir un gran número de flores, frutos y semillas. Una vez que las cápsulas se secan, abren longitudinalmente. Durante la dehiscencia las cápsulas permanecen en la planta, de manera que las semillas caen al suelo cuando ésta es agitada.

La hierba tiene una amplia distribución geográfica y está catalogada en varios países como una maleza nociva para la agricultura (Weaver & Warwick 1984). En México la especie se presenta como arvense o ruderal (*sensu* Baker 1974). Sin embargo, la característica distintiva de su hábitat es la perturbación humana, principalmente en aquellos lugares donde la vegetación es removida como basureros, a orillas de los caminos y en campos de cultivo abandonados (Núñez-Farfán 1991).

Plantas

Se seleccionaron ocho genotipos de *Datura stramonium* provenientes de hábitats contrastantes en la disponibilidad de agua en el suelo, con base en los regímenes de precipitación y temperatura media anual (Figura 3). Esto nos permitió esperar diferencias en la plasticidad de los genotipos y así evitar una homogeneidad de estas respuestas como ha pasado en algunos estudios previos (Engelman & Schlichting 2005, Pigliucci *et al.* 1995) en los cuales se espera una relación entre la plasticidad y la adecuación. Para minimizar los efectos e incrementar la disponibilidad de semillas, se usaron genotipos de una generación obtenida por autopolinización, pertenecientes a la base del material genético del Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución (Instituto de Ecología, UNAM). Para mejorar la sincronización de la germinación las semillas fueron expuestas por una semana a refrigeración, luego fueron incubadas y lavadas continuamente por 10 días antes de ser sembradas en tierra negra para su germinación, utilizando varias semillas de un genotipo por maceta.

Establecimiento de tratamientos

Una vez que las primeras hojas verdaderas aparecieron, las plantas fueron trasplantadas individualmente a macetas (36 plántulas por genotipo), y colocadas en un invernadero que

utilizó seis mesas en las cuales se delimitó un espacio equidistante entre plantas para evitar la competencia por luz y controlar los cambios de la arquitectura *per se*, lo anterior permitió que si se hubiesen presentado dichos cambios fueran homogéneos entre plantas. Un total de 288 plántulas fueron trasplantadas. Al cabo de dos semanas, una vez las plantas superaron el trasplante, fueron asignadas aleatoriamente a los ambientes de grano grueso. Para estos ambientes 18 plantas de cada genotipo fueron asignadas al tratamiento de baja disponibilidad de agua y 18 plantas al tratamiento de alta disponibilidad. Durante el transcurso de la ontogenia se generaron los ambientes de grano fino. Para esto, un grupo de plantas de cada tratamiento de grano grueso, bajo y alto, fue cambiado al tratamiento opuesto, alto y bajo respectivamente, cuando las plantas produjeron la primera flor; esto constituyó los cambios tempranos. Para los cambios tardíos en la ontogenia, un grupo de plantas en cada tratamiento de grano grueso, cuando las plantas produjeron la cuarta flor, fue cambiado al tratamiento opuesto. En total se aplicaron seis tratamientos (Figura 4), que incluyeron dos niveles de disponibilidad de agua y dos cambios a lo largo de la ontogenia:

- Grano grueso
 - i) Alto;
 - ii) Bajo;
- Grano fino
 - iii) Alto-Bajo temprano (de alta a baja disponibilidad de agua, temprano en la ontogenia);
 - iv) Alto-Bajo tarde (de alta a baja disponibilidad de agua, tarde en la ontogenia);
 - v) Bajo-Alto temprano (de baja a alta disponibilidad de agua, temprano en la ontogenia);
 - vi) Bajo-Alto tarde (de baja a alta disponibilidad de agua, tarde en la ontogenia).

El tamaño muestral al final en cada tratamiento al final del experimento no fue homogéneo debido a la mortalidad; algunos niveles de mortalidad y debido a esto la asignación homogénea de individuos a tratamientos no fue posible, de 288 individuos se pasó a 243 al final del

experimento. El número de muestra final de individuos en cada tratamiento fue: Alto = 54, Bajo = 45, Alto-Bajo temprano = 40, Alto-Bajo tarde = 30, Bajo-Alto temprano = 38, Bajo-Alto tarde = 36.

Control de la disponibilidad de agua

Los tratamientos de Baja y Alta disponibilidad fueron establecidos en términos del contenido relativo de agua en el suelo y medidos en términos de la capacidad de retención del agua del suelo (Larcher *et al.* 2003). El suelo utilizado consistió de tierra negra y arena, en una proporción 3:1. Esta proporción permite una evaporación rápida del agua en el suelo por su gran contenido de arena facilitando el control de la disponibilidad de agua. Primero, la capacidad de retención de agua del suelo fue establecida para una muestra de 100 gramos de suelo, esta dio un valor de 50 ml. Entonces, los tratamientos de baja y alta disponibilidad se ajustaron al 40 y 100% usando un sensor Aquaterr EC-300 (Aquaterr Instruments, USA). Para el tratamiento de alta disponibilidad de agua, se cuantificó la cantidad de mililitros de agua necesarios para que el suelo alcanzara el 100% de saturación, extrapolando la cantidad de mililitros de agua necesarios para saturar 100 gramos de suelo seco (aprox. 50 ml), a la cantidad de suelo seco utilizado en una maceta (aprox. 900 g). Se requirieron de 450 ml para que el suelo alcanzara la capacidad de campo. La capacidad de campo de este suelo fue calibrada con el Aquaterr EC-300 como el 100% (aprox. 1350 g de suelo). El 40% de disponibilidad de agua en el suelo calculado con el sensor equivale a 1,100 g de suelo aprox. El tratamiento de alta disponibilidad se mantuvo regando las plantas hasta saturación todos los días (100% de disponibilidad). Pesando 20 individuos aleatoriamente cada 7 días y cuantificando la disponibilidad de agua con el sensor, se determinó cuánta cantidad de agua diaria se agregaría al tratamiento del 40% de disponibilidad de agua en el suelo durante los siguientes 7 días, teniendo en cuenta así la ganancia en peso de las plantas. En promedio, las plantas de alta disponibilidad de agua recibieron 200 ml más de agua diarios que las plantas de baja disponibilidad. Las plantas fueron regadas diariamente durante la duración del experimento. Para los cambios de alta a baja disponibilidad de agua fue suficiente la espera de 24 horas para

obtener un suelo totalmente seco al que se le aplicó agua hasta obtener el 40% de disponibilidad.

A lo largo de la temporada de crecimiento de marzo a agosto de 2008, las condiciones microambientales del invernadero fueron monitoreadas con sensores HOBO (Onset Computer Corporation, USA), se observó una temperatura promedio de 27.10 ± 0.06 °C, humedad relativa $42.93 \pm 0.09\%$ e intensidad lumínica promedio de $3,133.59 \pm 18.73$ Lux. Las plantas fueron rotadas cada semana entre mesas para asegurar la eliminación de efectos microambientales.

Al final de la ontogenia, 17 semanas después de iniciada la aplicación de los tratamientos, se midieron los siguientes caracteres arquitecturales: (1) altura del metámero basal, (2) el diámetro del metámero basal, (3) el número de metámeros, (4) la longitud total de los metámeros de la corona, (5) los ángulos de la bifurcación entre metámeros, (6) el área de la corona, (8) la masa seca del tallo, (9) la masa seca de raíz, (10) el número de frutos y (11) el número de semillas (como aproximación a la adecuación). La altura total fue medida pero se eliminó de todos los análisis por poseer correlaciones muy altas con el resto de los caracteres.

A lo largo de la ontogenia el carácter volumen de la corona fue estimado en dos ocasiones para estimar las diferencias en crecimiento entre tratamientos, y se usó como covariable en los diferentes análisis estadísticos de tal forma que la plasticidad y selección encontrada no fuera producto de las diferencias en tamaño (Coleman *et al.* 1994). Para esto se desarrolló un índice multiplicativo del espacio ocupado por la planta que representa el volumen de espacio piramidal de la corona. La ecuación es: volumen de la corona = (área de la corona * altura de la corona) / 3. El área de la corona fue estimada tomando fotografías digitales mirando la planta desde arriba (Graham 2009) y usando un software de procesamiento de imágenes (Image Pro-Plus 6.0, Media Cybernetics, Inc). El área total correspondió al polígono irregular formado por los bordes de las hojas más externas.

Análisis de datos

Plasticidad fenotípica

El análisis de la variación en ambientes cambiantes se desarrolló a través de dos modelos conceptuales. El general o “empírico” (Hunt 1979), el cual consistió en una descripción de la variación de las respuestas considerando a todos los ambientes como grupos dentro del análisis de varianza, por tanto este modelo implicó un sólo análisis de varianza para todas las respuestas observadas. Este modelo, aunque robusto matemáticamente porque puede comparar todos los grupos simultáneamente, no posee mucho valor biológico ya que no se toma en cuenta cómo las diferentes respuestas plásticas son producidas. Para solucionar este problema y detallar las respuestas plásticas (Richards *et al.* 2006), se aplicó un modelo mecanicista o específico que las tiene en cuenta que involucró varios análisis de varianza; esto es, la comparación de las plantas que crecieron en (1) alta vs. baja disponibilidad de agua toda la vida; los cambios de (2) alta a baja disponibilidad temprano y (3) tarde en la ontogenia, y de (4) baja a alta disponibilidad temprano y (5) tarde en la ontogenia. Los Análisis de varianza, independientemente del modelo conceptual, implicaron las fuentes de variación: *i) Genotipo*, presencia de variación entre las familias utilizadas *ii) Tratamiento*, presencia de plasticidad según las condiciones ambientales experimentadas; *iii) Genotipo × Tratamiento*, presencia de variación genética para la plasticidad. En todos los análisis el volumen fue usado como covariable, excepto para el análisis del número de semillas. Un análisis de varianza multivariado para el volumen de la corona mostró diferencias a lo largo de la ontogenia para los diferentes tratamientos ($F = 34.13$ $P < 0.0001$). Cuando la covariable no fue significativa se ejecuto otro ANOVA sin incluirla.

Algunos de los caracteres no cumplieron el supuesto de homogeneidad de varianzas para el ANOVA. Por tanto, el número de metámeros se transformó con raíz cuadrada, la longitud total de los metámeros, el área, la masa seca del tallo y la raíz con el logaritmo en base diez. Ninguno de las significancias en los análisis difirió cuando los caracteres fueron analizados con los datos puros o estandarizando las variables. Por lo tanto, se presentan las medias de los caracteres sin

transformar y los resultados del ANOVA para los datos estandarizados (*e.g.*, Dechaine *et al.* 2007). Debido a que los valores de los caracteres fueron estandarizados antes del análisis de varianza, los cuadrados medios para cada combinación carácter vs. fuente de variación son directamente comparables entre caracteres, lo cual ayuda cuando se interpreta la importancia relativa de cada factor para explicar la variación fenotípica de un carácter dado (Pigliucci & Kolodinska 2006). En el modelo general se reportan los valores de probabilidad asociada para que el lector tenga una idea de la magnitud de la respuesta a cambio de realizar una corrección de Bonferroni, la idea es buscar un mejor entendimiento biológico del problema y no satisfacer una condición estadística (véase Moran 2003, para una crítica de rechazo al uso de Bonferroni en estudios ecológicos). En la aproximación mecanicista se reporta la probabilidad cualitativa asociada a cada fuente de variación.

Para la cuantificación de la plasticidad se utilizó un índice (IP, Valladares *et al.* 2000), adaptado para contrastar las respuestas de grano grueso con las de grano fino:

$$IP = [(\bar{X}_f - \bar{X}_g) / \bar{X}_g]$$

donde \bar{X}_f es el valor promedio para un genotipo en el tratamiento de grano fino y \bar{X}_g es el valor promedio del mismo genotipo en el tratamiento de grano grueso. La variación en IP representa la cuantificación de las diferencias fenotípicas relativas debidas al crecimiento en ambientes de grano fino. Cuando el signo de IP es positivo la expresión fenotípica en los ambientes de grano fino es mayor y cuando el valor es negativo la expresión en los ambientes de grano grueso es mayor.

Selección fenotípica

Existen diferentes aproximaciones para poner a prueba el valor adaptativo de una respuesta plástica, incluida la regresión entre ambientes de la adecuación promedio y la expresión fenotípica promedio de los genotipos (Scheiner 2002), y la evaluación de las consecuencias

sobre la adecuación de la supresión de respuestas plásticas en genotipos manipulados (Dudley & Schmitt 1996). En un escenario de ambientes cambiantes, otra forma concebible de probar la naturaleza adaptativa de una respuesta plástica es determinar si el “fenotipo objetivo” (el fenotipo para el cuál se espera una respuesta plástica) tiene una asociación positiva con la adecuación. Esta aproximación ha sido utilizada con anterioridad (Heschel *et al.* 2002, Gianoli & González-Teuber 2005) y tiene la ventaja de poder usar los fenotipos y no necesariamente los genotipos para los análisis. Se realizó un análisis de regresión lineal múltiple de la adecuación (“fitness”) como función de todos los valores fenotípicos estimados (Lande & Arnold 1983) en cada tratamiento, con el fin de estimar los gradientes de selección direccional lineal. Los caracteres cuya variación fenotípica es consecuencia de una respuesta plástica, con valores positivos para los gradientes de selección direccional en algún tratamiento, son interpretados como adaptativos.

Integración fenotípica

El acercamiento al estudio de la integración fenotípica se hizo a través de dos aproximaciones. La primera aproximación utiliza el análisis de regresión múltiple (Lande & Arnold 1983) para obtener los pasos iniciales en la construcción de un modelo de relaciones causales entre los diferentes caracteres (Pigliucci & Kaplan 2006, Byers 2005) en ausencia de información básica previa de mencionadas relaciones. No obstante, como punto inicial se utilizó información ecofisiológica basada en unas predicciones de la arquitectura de plantas conocidas como las reglas de Corner (Hallé 1978). Así, los caracteres con gradientes de selección significativos en el análisis de regresión múltiple y que además presentaron plasticidad (“fenotipo objetivo”) fueron utilizados para construir un modelo de relaciones causales (ver Tabla 6); Para la construcción del modelo se utilizó el programa EPA (Shipley 2000a, b) disponible gratuitamente de Bill Shipley (<http://pages.usherbrooke.ca/jshipley/recherche/my%20book.htm>). Este programa utiliza una aproximación para pequeños tamaños de muestra usando un remuestreo por bootstrap de los datos. El programa determina hipótesis causales de relación entre los caracteres. Las restricciones que se colocaron al modelo consistieron en que los caracteres que

son determinados temprano en el ciclo de vida no fueran influenciados por caracteres determinados tarde (*e.g.*, Byers 2005, Pigliucci & Kolodysnka 2006) y la regla de Corner conocida como *conformidad axial* (Halé 1978, Olson *et al.* 2009) en la cual entre más grueso y masivo es el diámetro del eje axial (en este caso el metámero basal) más grande son sus ramas (en este caso la corona que puede soportar). Por lo tanto, se fijaron las siguientes relaciones causales, el área de la corona causa el diámetro observado y este a su vez causa la altura del metámero basal la cual causa la cantidad de biomasa del tallo que se puede soportar (Figura 5).

Para la construcción del modelo se utilizó la matriz fenotípica (**P**) correspondiente a todos los ambientes, aunque es posible que el ambiente cause la estructura causal *per se* y no solo la relación entre los caracteres, aquí se utilizó esta aproximación debido a que no hay un marco conceptual aceptable sobre cómo comparar estructuras arbitrariamente diferentes. Segundo, trabajando con diferentes estructuras en diferentes ambientes resultaría en un simple ejercicio de ajuste de modelos y no la prueba de hipótesis biológicamente relevantes (Pigliucci & Kaplan 2006). El modelo se ajustó a un nivel de significancia igual a 0.05 (Shibley 200b). El modelo resultante fue entonces puesto a prueba para determinar los coeficientes de ruta (*i.e.*, “path coefficients”) de cada una de las relaciones causales inmersas con el programa Systat 12 (opción RAMONA, los coeficientes fueron estimados con el algoritmo de máxima verosimilitud de Wishart –MLW, Systat software, Inc.), esta vez aplicando el modelo a cada uno de los tratamientos del experimento para calcular los coeficientes de ruta. Los cambios en los coeficientes de ruta entre ambientes y el número de relaciones significativas son interpretados como cambios en la integración fenotípica. A su vez, esta aproximación sirve para buscar hipótesis biológicas más relevantes de la relación de los diferentes caracteres con la adecuación (Pigliucci & Kaplan 2006) apoyando la interpretación del análisis de selección en este estudio.

La segunda aproximación al estudio de la integración fenotípica indagó la plasticidad de las matrices de varianza-covarianza (Pigliucci *et al.* 1999). Para esta aproximación también se usó la matriz **P** de cada una de las condiciones ambientales. Uno desearía realizar este estudio sobre la matriz genética de varianza-covarianza (**G**) en lugar de **P**. Sin embargo, esto presenta problemas

logísticos no muy triviales (debido al gran tamaño de muestra necesario para el experimento) y está más allá del alcance de este estudio. Como en el caso de los análisis de selección y la medida de su intensidad estimados, la comparación de análisis fenotípicos ha sido de manera rutinaria llevada a cabo (Stratton 1992, Andersson 1996, McPeck 1997, Pigliucci *et al.* 1999). Para este propósito se ejecutó un análisis de componentes principales comunes (CPC por su sigla en inglés; Phillips & Arnold 1999) realizando diferentes contrastes en una aproximación exactamente similar con la que se indagó la plasticidad en los diferentes ambientes. Todos los caracteres de la matriz **P** general fueron estandarizados y las matrices de covarianza para cada condición ambiental fueron contrastadas de la siguiente manera:

- Modelo general o empírico

- (i) Todos los ambientes fueron contrastados

- Modelo mecanicista

- (ii) plantas que crecieron en alta vs. baja disponibilidad de agua toda la vida; (iii) los cambios de alta a baja disponibilidad temprano y (iv) tarde en la ontogenia, y de (v) baja a alta disponibilidad temprano y (vi) tarde en la ontogenia.

Los análisis fueron llevados a cabo con el software CPC disponible gratis de Patrick Phillips (<http://www.uoregon.edu/~pphil/programs/cpc/cpc.htm>). El análisis de componentes principales comunes empieza probando la hipótesis más simple posible, que las dos o más matrices que están siendo comparadas *no poseen algún componente principal significativo* (sus estructuras son completamente diferentes). Si la hipótesis no es rechazada, el procedimiento prueba el siguiente nivel, el cual es que la matrices *comparten un componente principal* (usualmente el que explica la mayor cantidad de varianza). El algoritmo entonces procede probando una jerarquía de hipótesis contrastantes que va en aumento, tal como la similaridad entre dos, tres o más componentes principales entre las matrices, hasta $n-2$, donde n es el número total de caracteres estudiados. La siguiente hipótesis en la jerarquía es de

proporcionalidad pero no de *igualdad* entre las matrices y la última posible considera el caso en el cual las matrices son *idénticas* (comparten todos los componentes principales y sus eigenvalores no son significativamente diferentes). Existen varias formas de probar las hipótesis en la jerarquía y se escogió la aproximación de “construcción del modelo” (*i.e.*, “model building approach”, Phillips & Arnold 1999) la cual en vez de probar la significancia de cada una de las hipótesis, escoge el mejor modelo basándose en el criterio de Akaike (AIC). El mejor modelo es el que posee el menor valor de AIC (Phillips & Arnold 1999).

RESULTADOS

Plasticidad fenotípica

Se observó una amplia variación de la expresión fenotípica a través de los diferentes tratamientos (Tabla 1). En general, las plantas expuestas más tiempo de su ontogenia a alta disponibilidad de agua presentaron mayores valores de expresión fenotípica en comparación con las plantas expuestas un mayor tiempo a menor disponibilidad de agua. Por ejemplo, la altura del metámero basal en ambientes de grano grueso fue más grande en alta disponibilidad de agua que en baja (Tabla 1, columnas 2 y 3); en ambientes de grano fino el patrón se repite, plantas expuestas a mayor disponibilidad de agua durante sus vidas presentan mayor altura en comparación con plantas expuestas a menor disponibilidad de agua (Tabla 1, columna 4 vs. columna 5 y columna 6 vs columna 7). Algunas excepciones a este patrón general en donde se observó una mayor expresión fenotípica en plantas expuestas a baja disponibilidad de agua durante un mayor tiempo a lo largo de la ontogenia se presentaron para: (i) el número de metámeros en grano fino (columna 4 vs 5); (ii) los ángulos en grano grueso (columna 2 vs. 3) y fino (columna 4 vs. 5); (iii) el número de frutos en grano fino (columna 6 vs. 7), (iv) el número de semillas en grano fino (columna 4 vs. 5) y (v) el porcentaje de abortos en ambientes de grano grueso (columna 2 vs. 3) (Tabla1).

El comportamiento de las plantas a través de los diferentes tratamientos para la producción de semillas fue especialmente importante (Tabla 1), ya que ésta fue la medida para evaluar el impacto de la disponibilidad de agua. Los ambientes de grano fino presentaron un porcentaje de incremento del 73.19% en la producción del número de semillas (*i.e.*, 150 semillas más en promedio) en comparación con los ambientes de grano grueso, relegando a estos últimos como los más estresantes o de menor desempeño, de mayor a menor de acuerdo a la adecuación se observó el patrón, Alto-Bajo temprano = Bajo-Alto temprano > Alto-Bajo tarde = Bajo-Alto tardío > Alto > Bajo.

El análisis general de las normas de reacción mostró que la cantidad de varianza fenotípica explicada por cada carácter se encontró entre un mínimo de 40% (biomasa de raíz) y un máximo de 83% (longitud total de metámeros) (Tabla 2). Es interesante resaltar que para casi todos los caracteres, excepto la raíz y el diámetro, las fuentes de variación resultaron significativas. Sin embargo, la mayor parte de la varianza fenotípica estuvo asociada no con el componente genético de diferenciación entre familias, sino con el efecto ambiental (*i.e.*, diferentes tratamientos de agua). A su vez, los efectos de interacción explicaron muy poca varianza fenotípica. Esto significa que la variación fenotípica inducida por el ambiente fue más importante que la diferenciación genética o la diferenciación genética para la plasticidad en las familias y ambientes examinados.

Cuando se consideró el efecto ambiental con más detalle con una aproximación mecanicista que tiene en cuenta las respuestas plásticas estudiadas (Tabla 3), se observó que en ambientes de grano grueso el componente ambiental continua explicando en mayor medida la varianza fenotípica, para los ambientes de grano fino que ocurren tarde en la ontogenia la varianza fenotípica inducida por el ambiente no es tan relevante como la varianza debida a la diferenciación genética para la plasticidad (*i.e.*, término de interacción Tabla 3, grano fino respuestas tardías). En general la varianza asociada a las familias presenta pequeños incrementos en los ambientes de grano fino con excepción de las plantas que vivieron poco en un ambiente de alta disponibilidad de agua (Tabla 3, contrástese ambientes de grano grueso y fino para el factor genotipo).

Las respuestas plásticas significativas encontradas con esta aproximación para ambientes de grano grueso fueron la altura, el número de metámeros, la longitud de los metámeros y el tallo (Tabla 3, grano grueso). Para el grano fino las respuestas que ocurren temprano en la ontogenia inducen la plasticidad de caracteres como la altura, el diámetro, la longitud total de los metámeros y el tallo, independientemente de si las plantas pasaron poco tiempo en alta y baja disponibilidad de agua (Tabla 3, grano fino respuestas tempranas). Las respuestas de grano fino que ocurren tarde en la ontogenia presentaron variación genética para la plasticidad en los

ángulos para las plantas que pasaron de alta a baja disponibilidad y en casi todos los caracteres en las plantas que pasaron de baja a alta disponibilidad excepto los ángulos (Tabla 3, grano fino respuestas tardías).

El análisis de las diferencias en adecuación (*i.e.*, No. semillas) tanto para el modelo general como el específico mostró diferencias significativas para el componente genético y ambiental, con excepción de las plantas que pasaron de alta a baja disponibilidad tarde en la ontogenia, cuyas diferencias ambientales resultaron marginalmente significativas (Tabla 3, $P = 0.05$). Estos resultados revelan que algunos genotipos pueden tener una ventaja selectiva si los regímenes de selección alternativos fuesen igualmente frecuentes y que la calidad ambiental afecta la adecuación promedio observada.

Las normas de reacción para los caracteres examinados representan el patrón encontrado en los análisis de varianza, las respuestas en ambientes de grano fino incrementan la varianza fenotípica observada y en la mayoría de los caracteres el mayor incremento se presentó en las respuestas tardías (Figura 6, líneas azules) en parte debido a la variación genética para la plasticidad observada en estos ambientes y a los pequeños aumentos de la variación fenotípica debido a las familias reportados aquí en ambientes de grano fino en general (Figura 6, nótese un ejemplo claro del fenómeno en A, D, F, G y H). Lo anterior también se ve reflejado en la cuantificación de la plasticidad (Tabla 4). Las respuestas plásticas de los ambientes de grano grueso fueron similares en grado a las de las respuestas tempranas en la ontogenia y estas a su vez fueron mayores que las respuestas tardías para todos los caracteres en los ambientes de grano fino. Sin embargo, la mayor variación genética (estimada como el coeficiente de variación de las respuestas plásticas para las diferentes familias) de la plasticidad se encuentra asociada a ambientes de grano fino. Los cambios en el patrón de plasticidad se comportaron como lo esperado, cuando los cambios son de alto a bajo, la plasticidad es negativa (*i.e.*, menor expresión fenotípica en el ambiente de baja disponibilidad de agua) y cuando los cambios son de bajo a alto la plasticidad es positiva (*i.e.* mayor expresión fenotípica en el ambiente de alta disponibilidad de agua).

Selección fenotípica

El análisis de regresión lineal múltiple (Tabla 5) indicó gradientes de selección lineal significativos para la altura, la longitud total de los metámeros, el tallo y el área de la corona. Sin embargo, el carácter bajo selección difiere dependiendo del grano ambiental. En ambientes de grano grueso los caracteres de plantas expuestas a alta disponibilidad de agua que presentaron plasticidad (*i.e.*, entre Alto vs. Bajo) y estuvieron bajo selección direccional negativa fueron la altura ($\beta' = -0.22$; $P = 0.017$) y la longitud de los metámeros ($\beta' = -0.51$; $P = 0.009$), el carácter bajo selección direccional positiva fue el tallo ($\beta' = 0.46$; $P = 0.004$). En este mismo grano ambiental el carácter de las plantas expuestas a baja disponibilidad de agua que presentó plasticidad y estuvo bajo selección direccional negativa fue la altura ($\beta' = -0.47$; $P = 0.016$) y el carácter que presentó plasticidad y estuvo bajo selección direccional positiva fue el tallo ($\beta' = 1.52$; $P = 0.000$) (Tabla 5). En los ambientes de grano fino las respuestas bajo selección ocurrieron para las plantas que cambiaron de baja a alta disponibilidad de agua, el único carácter de las plantas que estuvieron expuestas a esta condición temprano en la ontogenia y presentó selección direccional negativa fue la altura ($\beta' = -0.26$; $P = 0.003$). Los caracteres de plantas que estuvieron expuestas a esta condición y se cambiaron tarde en la ontogenia y presentaron selección direccional negativa fueron la altura ($\beta' = -0.42$; $P = 0.003$) y la longitud total de los metámeros ($\beta' = -0.81$; $P = 0.000$). Para este mismo grupo de plantas los caracteres bajo selección direccional positiva fueron el área ($\beta' = 0.27$; $P = 0.01$) y el tallo ($\beta' = 0.69$; $P = 0.000$). Para las plantas que pasaron de alta a baja disponibilidad de agua la selección ocurre en caracteres que no presentaron una respuesta plástica (*i.e.*, Alto vs. Bajo temprano y Alto vs. Bajo tarde) (Tabla 5). Así, las respuestas plásticas en ambientes de grano fino presentaron gradientes de selección direccional lineal mayores que los ambientes de grano grueso.

Integración fenotípica

El análisis de ruta para los caracteres plásticos y con selección direccional encontrados en el análisis de regresión múltiple (Figura 7), demostró que la magnitud de las relaciones causales entre caracteres cambia dramáticamente con el grano ambiental. En general, para los ambientes de grano grueso el ambiente más estresante, Bajo, presentó un mayor nivel de integración que el resto de ambientes (*i.e.*, cuatro de sus siete relaciones causales tienen valores significativos), las relaciones causales más sobresalientes en este ambiente fueron el área de la corona con el diámetro del metámero basal, como la altura con la longitud total de los metámeros, este último con las semillas y el tallo con las semillas.

En los ambientes de grano fino este patrón de aumento en la integración de la altura con los caracteres de la corona se mantiene aunque las relaciones causales se hicieron más fuertes que las observadas en ambientes de grano grueso; en el ambiente de grano grueso Alto las plantas aumentaron de una relación causal significativa (*i.e.* la longitud total de los metámeros con las semillas) a dos (*i.e.*, la altura con la longitud total de los metámeros y el tallo) o tres (*i.e.*, la altura con la longitud total de los metámeros y el tallo y la longitud total de los metámeros con las semillas) cuando cambian a baja disponibilidad de agua temprano y tarde en la ontogenia respectivamente. En los ambientes cambiantes de baja a alta disponibilidad de agua temprano o tarde en la ontogenia se observó una disminución de la integración observada en las relaciones causales significativas, de cuatro relaciones causales en el ambiente Bajo se disminuyeron a dos (*i.e.*, el área con el diámetro y la longitud total de los metámeros con la semilla) o una (*i.e.*, el tallo con las semillas) cuando las plantas cambian a alta disponibilidad de agua temprano y tarde en la ontogenia respectivamente (Figura 7).

El cambio en los coeficientes de ruta mostró un patrón interesante, no siempre un mayor diámetro del metámero basal significó una mayor altura; sin embargo, ésta siempre soportó una mayor corona. En el ambiente de alta disponibilidad de agua un mayor diámetro significó una menor altura que produce un mayor tallo y más semillas. En el ambiente de baja

disponibilidad se cumplió la predicción, un mayor diámetro produjo una mayor altura y ésta se tradujo en metámeros y tallos más grandes que incrementan el número de semillas, lo cual refleja el grado de integración de este ambiente a pesar de presentar los valores fenotípicos más bajos. En los ambientes de grano fino, un mayor diámetro conduce a tener menos altura y una mayor corona; sin embargo, este patrón estuvo asociado con la producción de semillas en las plantas que pasaron de baja a alta disponibilidad de agua tarde en la ontogenia. Las plantas que pasaron de baja a alta disponibilidad temprano en la ontogenia cumplen la predicción y producen más semillas por el aumento de la longitud de los metámeros.

El análisis de componentes principales comunes mostró tres niveles de similitud entre las matrices de varianza-covarianza (Tabla 6). Cuando se analizan los datos para todas las matrices entre sí, el resultado es un fuerte efecto ambiental sobre las matrices de varianza-covarianza indicando que todos los ambientes comparten tan sólo un componente. Cuando se analizaron en detalle las respuestas plásticas implicadas, se encontró que los ambientes de grano grueso y los de grano fino que ocurren temprano en la ontogenia comparten tres componentes principales, mientras que las respuestas tardías comparten dos componentes. Un exámen a fondo de la estructura de los tres primeros componentes principales en cada condición ambiental demostró que, en promedio, pueden explicar el 81% de la varianza observada en las matrices de varianza-covarianza. El hecho de compartir el primer o segundo componente principal explicó en promedio el 45% y 67% de la varianza acumulada.

DISCUSIÓN

Respuestas plásticas en ambientes cambiantes

Este estudio muestra que la variación fenotípica en las plantas de *Datura stramonium* es dependiente del grano ambiental. Los efectos de exponer las plantas durante toda la vida a condiciones estables en la disponibilidad de agua generan patrones de plasticidad que pueden ser seleccionados. No obstante, en ambientes de grano fino la distribución de la varianza ambiental a lo largo de la vida de las plantas afecta no sólo cuáles caracteres pueden responder, sino la dirección y la magnitud de la respuesta además de la presencia de fuertes interacciones genotipo-ambiente. Estos cambios en las respuestas plásticas en ambientes de grano fino son afectados con diferente magnitud y patrón de selección. Otros trabajos con herbáceas utilizando ambientes cambiantes para nutrientes han reportado un aumento de la adecuación medida como cantidad de biomasa total (Wijesinghe & Hutchings 1999) o una disminución de la mortalidad (Day *et al.* 2003a, b).

Reconociendo a las plantas como los medidores del ambiente (Fisher 1930), se encontró en este estudio que las plantas de *Datura stramonium* sometidas a ambientes de grano fino producen mayor adecuación que los de grano grueso, observándose el patrón: Alto-Bajo temprano = Bajo-Alto temprano > Alto-Bajo tarde = Bajo-Alto tarde > Alto > Bajo. En esta secuencia se resalta la dependencia ontogenética de las respuestas en ambientes de grano fino. Lo que ocasiona un aumento de la adecuación en los ambientes de grano fino respecto al grano grueso, es el cambio de la disponibilidad del recurso (*i.e.*, un nuevo ambiente *per se*) a través de la ontogenia y no el tipo de ambiente particular hacia el cuál ocurre el cambio de condiciones. La variación en la mayor adecuación observada en ambientes de grano fino está determinada por el momento en que ocurren los cambios, siendo los cambios tempranos los que producen la mayor adecuación.

Las respuestas plásticas de las plantas de *Datura stramonium* sometidas a diferentes disponibilidades de agua durante la ontogenia, son consistentes con las expectativas teóricas, permitiendo una mejor explotación del recurso (Grace 1997, Schulze *et al.* 1987). Plantas que se expusieron a una menor disponibilidad de agua durante la ontogenia tienen menor área de la corona, la cual reduce la pérdida por evaporación y menor asignación de biomasa a los tallos lo cual ocasiona disminución de la expresión fenotípica de la altura del metámero basal y la longitud de los metámeros; valores menores de expresión fenotípica permiten un uso más eficiente del agua cuando es limitante (Ryser & Eck 2000). Así, las respuestas fenotípicas de las plantas en ambientes cambiantes fueron congruentes con las expectativas ecofisiológicas. Sin embargo, esto no significa que se haya documentado plasticidad fenotípica adaptativa, debido a que no se encontró evidencia de que los genotipos más plásticos estuvieran asociados con una mayor adecuación. Para evaluar esta hipótesis se requiere de un mayor número de genotipos. Sin embargo, en este trabajo se demuestra que las variantes fenotípicas debidas a plasticidad en ambientes cambiantes pueden estar bajo selección, y por lo tanto, tendrían algún valor adaptativo.

Selección fenotípica

En las plantas de *Datura stramonium* los caracteres que aparentan mostrar patrones adaptativos según el análisis de regresión múltiple fueron el tallo y el área. Para el tallo la selección tuvo lugar en ambos ambientes de grano grueso y en el fino en plantas que pasaron de Bajo a Alto tarde en la ontogenia. En los ambientes de grano grueso la selección parece estar actuando aumentando la media fenotípica y no la plasticidad *per se* ya que la selección tuvo lugar en los dos extremos ambientales Alto y Bajo; no obstante, la selección fue más fuerte en baja disponibilidad de agua, lo que sugiere que la plasticidad se vería disminuida (tendencia a reducir la diferencia entre ambos ambientes). En los ambientes de grano fino donde las plantas pasaron de baja a alta disponibilidad tarde en la ontogenia, la biomasa del tallo y el área estuvieron bajo selección, lo que indica un favorecimiento del incremento de la plasticidad.

Un favorecimiento de los incrementos de la biomasa del tallo en ambientes de baja disponibilidad de agua se ha encontrado relacionado con la construcción de una corona más grande, siendo ésta al parecer una adaptación que le permite a las plantas crecer más que sus vecinos en un ambiente seco para adquirir más luz (Guan *et al.* 2000, Ryser & Eck 2000, Sultan 2001). En los ambientes de grano fino el favorecimiento de una mayor biomasa del tallo y el área (en plantas que pasan de baja a alta disponibilidad de agua) es concordante con las predicciones de asignación de biomasa en plantas (*i.e.*, se espera una mayor asignación al tallo cuando el recurso limitante se encuentra en abundancia; revisado en Camargo & Rodríguez López 2006). Sin embargo, el hecho de que estos cambios ocurran tarde en la ontogenia no es esperado sobre bases teóricas (Pigliucci 2001).

Durante mucho tiempo se ha pensado que las diferencias observables entre plantas adultas son el resultado de decisiones muy tempranas y que la adecuación de los individuos está influenciada más fuertemente por el ambiente que experimentan como plántulas que por las condiciones encontradas tarde en la ontogenia (Pigliucci 2001). El fenómeno es conocido formalmente como contingencia ontogenética (Diggle 1994). La adecuación está influenciada entonces por *ventanas de plasticidad* (Pigliucci 2001), es decir, oportunidades tempranas en el desarrollo para que la planta sea plástica después de la cual la arquitectura del organismo está lo suficientemente bien establecida impidiendo la plasticidad fenotípica adaptativa. La evidencia para este fenómeno es fuerte en los estudios de partición óptima de biomasa, en la cual, no se producen los cambios en asignación de biomasa esperados cuando las plantas son cambiadas tarde en la ontogenia al ambiente opuesto en el cual han crecido, y donde se espera plasticidad (*e.g.*, Gedroc *et al.* 1996, revisado en Camargo & Rodríguez-López 2006).

En este trabajo se demuestra que las condiciones experimentadas tarde en la ontogenia pueden favorecer incrementos de adecuación por encima de los ambientes en los cuales las plantas no sufren ninguna perturbación. Por supuesto, este resultado tiene que ver mucho con el sujeto de estudio. En *Datura stramonium* no hay una clara diferenciación de la fase reproductiva y vegetativa, ya que el modelo de crecimiento de Lewenberg permite la producción de

inflorescencias secuenciales al final de un nuevo metámero construido en la corona (Hallé 1978), de esta forma la planta asigna recursos simultáneamente a las dos estrategias, de hecho una buena parte de la altura total de la planta la representa la corona ($33.5\% \pm 2.55$ error estándar ambiental, en este estudio). Lo anterior podría permitir a esta planta generalista mantener activas ventanas de plasticidad a lo largo del desarrollo las cuales pueden ser seleccionadas a favor tarde en la ontogenia. Sin embargo, la dependencia ontogenética de las respuestas plásticas en este estudio es evidente, las respuestas que ocurren temprano en la ontogenia poseen mayores valores de plasticidad que las respuestas tardías; no obstante, la ventaja evolutiva de las respuestas plásticas tardías reside en la cantidad de varianza fenotípica debido a las familias y la presencia de interacciones genotipo ambiente. Otros trabajos han encontrado una estrecha relación entre la magnitud de la plasticidad y la adecuación (*e.g.*, Pigliucci & Schlichting 1996) corroborando las expectativas teóricas (Alpert & Simms 2002).

Selección e Integración fenotípica

El análisis de ruta demostró que la regla de *conformidad axial* se cumple en las plantas de *Datura stramonium* bajo la estructura causal impuesta. Recientemente, se ha sugerido la universalidad de la reglas de Corner (Olson *et al.* 2009) analizando su variación a lo largo de un gradiente ambiental natural. A pesar de las diferencias ambientales la relación entre el diámetro y el área de la corona se mantiene aunque los valores fenotípicos de estas dos variables cambiaron con el ambiente (Olson *et al.* 2009). Lo anterior sugiere un papel de la plasticidad como amortiguador de la variación ambiental mientras mantiene la relación diámetro-corona. En el caso de este estudio la variación ambiental puede generar una múltiple variedad de formas a través de plasticidad siempre y cuando se mantenga dicha relación, el mantenimiento de la relación diámetro-corona sugiere un papel de la integración fenotípica en los diferentes tratamientos, la cual actuaría como un mecanismo de control de la variación, dependiendo del grado de estrés percibido por las plantas en los diferentes ambientes utilizados.

Estrés e integración fenotípica

Una de las posiciones teóricas más interesantes de los estudios de integración fenotípica es aquella en la cuál el estrés es el que genera el aumento del grado de integración (Schlichting 1986) debido a la cohesión necesaria para responder a estas condiciones estresantes, existe evidencia empírica en favor de esta posición (Schlichting 1989, Kawano & Hara 1995, Waitt & Levin 1993, Gianoli 2004). Este estudio muestra evidencia a favor de esta hipótesis en los ambientes de grano fino. Siempre que las plantas pasaron de alta a baja disponibilidad de agua, un ambiente más estresante, presentaron un aumento de la integración (como lo señala el aumento de correlaciones causales significativas encontradas en el análisis de ruta) en comparación con las plantas del ambiente de alta disponibilidad de agua. Los cambios que ocurren hacia un ambiente más favorable, plantas de baja a alta disponibilidad de agua, presentaron una disminución del grado de integración, agregando evidencia a favor de esta hipótesis.

Lo anterior es corroborado en los cambios inducidos en la matriz de varianza-covarianza debido a los ambientes de grano fino. Siempre que los cambios ocurrieron temprano en la ontogenia las matrices de varianza-covarianza fueron menos flexibles (comparten 3 componentes principales comunes) que las de cambios tardíos (comparten 2 componentes principales comunes), lo que ocasiona un menor aumento en el grado de integración (cuando los cambios son de Alto a Bajo) o de desintegración del fenotipo (cuando los cambios son de Bajo a Alto). Cuando los cambios ocurren tarde en la ontogenia las matrices de varianza-covarianza son más flexibles, lo que ocasiona un mayor aumento en el grado de integración (cuando los cambios son de alto a bajo) o de desintegración del fenotipo (cuando los cambios son de bajo a alto).

El supuesto de una mayor integración en ambientes más estresantes ha sugerido, además, que la expresión de plasticidad fenotípica podría disminuir con un mayor grado de integración (Schlichting 1986, Schlichting & Pigliucci 1998). Contrario a esta propuesta este estudio encontró que las respuestas tempranas poseen mayor plasticidad que las respuestas tardías.

Una mayor integración en el ambiente de baja disponibilidad de agua no impide la expresión de una mayor plasticidad en los cambios que ocurren temprano en la ontogenia, lo que indica que una mayor integración no impide la expresión de mayor plasticidad y sugiere la existencia de una contingencia ontogenética la cual disminuye el grado de expresión de plasticidad en cambios tardíos. Un reciente estudio empírico encontró evidencia de que una mayor plasticidad puede estar acoplada con un alto grado de estabilidad de relaciones causales entre caracteres (Pigliucci & Kolodinska 2006).

Se especula que si los genotipos colectados en este estudio pertenecían a dos condiciones macroambientales en las cuales para la temporada de crecimiento de la especie, se ha experimentado a lo largo de su historia condiciones de baja o alta disponibilidad de agua, la presencia de variaciones esporádicas en precipitación al inicio de la temporada de crecimiento generarían una mayor heterogeneidad de agua disponible en el suelo en los sitios de origen. Lo anterior tiene relevancia en este estudio, ya que una mayor plasticidad en las respuestas tempranas podría ser favorecida si las variaciones en la frecuencia de la disponibilidad de agua por precipitaciones esporádicas (de baja a alta y de alta a baja disponibilidad) en los sitios de origen, ocurren en el establecimiento de plántulas, constituyéndose este tipo de cambios ambientales como históricamente más frecuentes para los genotipos de *Datura stramonium* utilizados en este estudio. Una mayor sensibilidad a la variación en la frecuencia de precipitación en herbáceas jóvenes debido a la poca profundidad de sus raíces parece un argumento plausible (revisado en Yopez & Williams 2009). A su vez, una menor variación de la disponibilidad de agua una vez las plantas están establecidas, en los sitios de origen, podría favorecer una reducción de la plasticidad. Otros trabajos han encontrado una asociación entre una mayor plasticidad y un aumento de la heterogeneidad ambiental en los sitios de origen en plantas herbáceas anuales (*e.g.*, Gianoli 2004). No obstante, la ausencia de datos históricos de la disponibilidad de agua en el suelo para los sitios de origen en este estudio, hace difícil apoyar el anterior argumento.

Evolución en ambientes cambiantes: nuevos ambientes

Se ha sugerido que los organismos sujetos a nuevas condiciones ambientales revelarían nueva variación fenotípica en porciones previamente no expuestas de la norma de reacción de desarrollo (Schlichting & Pigliucci 1998). Esta liberación de variación “oculta” sugiere la existencia de un mecanismo de amortiguamiento que ayuda a almacenar la variación, (*i.e.*, canalización; Waddington 1952, 1953, revisado en Flatt 2005). Cuando nuevas condiciones ambientales surgen y el mecanismo de amortiguamiento falla, la variación fenotípica es liberada y está disponible para que la selección actúe sobre ella (Dworkin 2005). La selección presentada en estos nuevos ambientes almacenaría de nuevo la variación fenotípica presentada, canalizando así el fenotipo. El proceso completo se conoce como asimilación genética (Waddington 1952, 1953). Un aumento de la variación fenotípica en nuevos ambientes ha sido reportado en varios estudios (Clausen *et al.* 1940, Heldagotir & Sinadon 1986, revisados en Núñez-Farfán & Schlichting 2001) y la plausibilidad del fenómeno de asimilación genética ha sido establecida con alguna evidencia empírica (Waddington 1952, 1953).

Los mecanismos para la liberación de esta variación han sido revisados recientemente (Schlichting 2008), uno de estos sugiere que una alta integración fenotípica del organismo decrece su flexibilidad (e impide la expresión de la variación oculta), mientras la desintegración del fenotipo es un prerequisite para la expresión de nueva variación fenotípica, sea esta seleccionada o no.

En este estudio se encontró evidencia acorde con la hipótesis anterior. En los ambientes de grano fino se presentó un ligero aumento de la variación genética, y algunos cambios que ocurrieron tarde en la ontogenia presentaron un nivel de integración menor que los cambios tempranos. La evidencia de esto es que los cambios tardíos no comparten con los ambientes de grano grueso el tercer componente principal como lo mostró el análisis de componentes principales comunes. Los ambientes de grano fino de Bajo a Alto tarde en la ontogenia constituyen lo que puede ser un ambiente muy nuevo para las plantas *de Datura stramonium*,

ya que las variaciones en las frecuencia de precipitación en etapas avanzadas de la ontogenia de las plantas en los sitios de origen pueden ser menos factibles que cuando llegan las lluvias al inicio de la temporada de crecimiento. Las respuestas plásticas en este ambiente estuvieron asociadas a una menor integración. Una consecuencia de lo anterior es la exposición de nueva varianza fenotípica asociada a los caracteres de la corona como lo muestra la presencia fuerte de interacciones genotipo-ambiente (corroboradas en el análisis específico para las interacciones ambientales y en la representación de las normas de reacción para estos caracteres en las plantas que pasaron de Bajo a Alto tarde en la ontogenia). Parte de esta varianza fenotípica liberada puede a su vez ser seleccionada, como lo mostró la intensa selección observada en el tallo y el área de plantas que pasaron de Bajo a Alto tarde en la ontogenia (Tabla 5).

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

A favor de la hipótesis planteada este trabajo encontró que en plantas de *Datura stramonium* la plasticidad en ambientes de grano fino puede ser seleccionada y favorecer aumentos de la adecuación; sin embargo, la exposición de un aumento de la varianza fenotípica a través de una menor integración solo es factible aparentemente en ambientes nuevos para la especie.

Este estudio ilustra la importancia del uso de múltiples metodologías para el estudio de la selección en ambientes cambiantes. El uso de una hipótesis de relación entre caracteres basado en información previa y multidisciplinaria puede ser probado para diferentes cambios ambientales a los que se sometan individuos con relaciones genéticas conocidas. El grado de integración de las asociaciones calculadas en el análisis de ruta puede entonces ser probado con análisis de componentes principales comunes lo que ayuda a mejorar la interpretación biológica e inclusive las predicciones acerca del sistema de estudio. Los modelos generales de circulación de la atmósfera para este siglo predicen que la precipitación en general puede incrementarse debido a la intensificación del ciclo hidrológico bajo climas calientes (Karl & Trenbert 2003). *Datura stramonium* muestra responder a los patrones temporales en la disponibilidad de agua con aumentos significativos de la adecuación en comparación con ambientes más estables, lo que podría explicar la separación actual de su nicho en condiciones más estables, como su comportamiento ruderal en México (Núñez-Farfán & Dirzo 1994) y su comportamiento invasor en los escenarios climáticos mencionados. El grado de invasión de la especie puede ser muy grande si a lo anterior se suma la evidencia de preferencia de autopolinización como sistema de apareamiento, independientemente al tamaño poblacional encontrado (van Kleunen *et al.* 2007), lo que explica en buena medida su actual comportamiento invasor en países nórdicos.

El entendimiento de la escala y la distribución de la variación ambiental *in situ* en poblaciones naturales es un paso crucial en el desarrollo de una teoría cohesiva de la evolución de la plasticidad fenotípica en ambientes cambiantes, y de la predicción de la extensión de este fenómeno con el potencial invasor de una especie.

Tabla 1. Valores promedio en los seis tratamientos, error estándar en paréntesis. Los valores debajo de los tratamientos indican el número de individuos muestreados.

Caracteres	Grano grueso		Grano fino			
	Alto	Bajo	Alto-bajo temprano	Alto-bajo tardío	Bajo-alto temprano	Bajo-alto tardío
<i>N</i>	54	45	40	30	38	36
Metámero basal						
Altura (cm)	53.70 ^d (1.58)	38.07 ^a (1.44)	46.76 ^b (1.33)	54.18 ^d (1.91)	48.61 ^c (1.98)	37.04 ^a (1.37)
Diámetro (mm)	6.53 ^a (0.07)	6.00 ^a (0.11)	6.10 ^a (0.06)	6.19 ^a (0.12)	6.81 ^a (0.10)	6.61 ^a (0.20)
Corona						
No. metámeros	20.17 ^b (1.62)	8.04 ^a (0.53)	13.00 ^b (0.75)	10.87 ^a (1.00)	13.47 ^b (0.93)	12.06 ^a (0.74)
Longitud total metámeros	90.64 ^b (5.35)	37.38 ^a (3.52)	42.27 ^a (1.98)	55.63 ^a (3.73)	72.19 ^a (3.45)	71.59 ^a (3.27)
Ángulos	63.76 ^a (1.83)	77.05 ^b (1.79)	73.85 ^b (1.68)	64.50 ^a (2.09)	74.19 ^b (1.65)	72.49 ^b (1.86)
Área (cm ²)	433.28 ^a (15.52)	329.21 ^b (14.66)	294.83 ^b (11.56)	399.17 ^b (16.62)	548.84 ^b (30.68)	449.39 ^b (20.64)
Volumen (cm ³)	4887.19 ^c (287.10)	1856.76 ^a (234.44)	1768.88 ^a (127.04)	3014.58 ^b (238.38)	4964.06 ^c (400.63)	4158.73 ^c (262.66)
Asignación de biomasa						
Tallo (g)	4.15 ^d (0.13)	1.73 ^a (0.12)	2.74 ^c (0.11)	3.74 ^d (0.18)	3.36 ^c (0.15)	2.79 ^b (0.14)
Raíz (g)	1.45 ^a (0.12)	1.05 ^a (0.09)	1.07 ^a (0.08)	1.09 ^a (0.09)	1.57 ^a (0.16)	1.42 ^a (0.17)
Reproductivos						
Frutos	2.61 ^a (0.23)	2.31 ^a (0.26)	4.15 ^c (0.23)	3.63 ^c (0.28)	3.92 ^b (0.35)	4.00 ^c (0.25)
No. semillas	260.76 ^b (24.67)	149.27 ^a (19.27)	399.13 ^d (16.67)	301.70 ^c (29.26)	383.42 ^d (30.40)	336.44 ^c (30.72)

^{a, b, c, d} Las medias dentro de una fila son significativamente diferentes si ellas no comparten una letra (prueba de Tukey)

Tabla 2. Resultados del ANOVA general para cada uno de los caracteres. Los números debajo de cada fuente de variación son los grados de libertad. Se reportan los cuadrados medios y la probabilidad asociada en paréntesis. Siempre que la covariable (volumen) no fue significativa se reportan los resultados del análisis sin incluirla.

Carácter	Genotipo	Tratamiento	Genotipo × Tratamiento	Volumen	r²
	7	5	35	1	
Metámero Basal					
Altura	6.55 (<0.0001)	13.33 (<0.0001)	0.71 (0.051)	0.13 (0.126)	0.61
Diámetro	3.74 (<0.0001)	1.12 (0.139)	0.92 (0.089)	16.47 (<0.0001)	0.47
Corona					
No. metámeros	1.04 (0.046)	6.06 (<0.0001)	0.81 (0.02)	33.5 (<0.0001)	0.60
Longitud total metámeros	0.94 (<0.0001)	1.82 (<0.0001)	0.40 (0.004)	64.6 (<0.0001)	0.83
Ángulos	3.58 (<0.0001)	4.55 (<0.0001)	1.00 (0.042)	8.09 (0.001)	0.47
Área	1.08 (<0.0001)	2.36 (<0.0001)	0.43 (0.018)	59.71 (<0.0001)	0.79
Asignación de biomasa					
Tallo	2.45 (<0.0001)	10.79 (<0.0001)	0.53 (0.001)	27.05 (<0.0001)	0.79
Raíz	3.89 (<0.0001)	0.41 (0.744)	1.34 (0.008)	13.86 (<0.0001)	0.40
Adecuación					
No. semillas	223089.8 (<0.0001)	309446.2 (<0.0001)	27251.3 (0.057)		0.54

Tabla 3. Resultados del ANOVA específico para cada uno de los caracteres. Los números debajo de cada fuente de variación son los grados de libertad. Se reportan los cuadrados medios. Siempre que la covariable (volumen) no dio significativa se reportan los resultados del análisis sin la misma.

Grano	Carácter	Genotipo	Tratamiento	Genotipo × Tratamiento	Volumen	r ²
		7	1	7	1	
Grueso						
Alto vs. Bajo	Altura	2.73***	30.18***	0.31	0.90	0.57
	Diámetro	1.80*	0.95	1.20	8.50***	0.46
	No. metámeros	0.70	2.34*	0.60	16.50***	0.65
	Long. total metámeros	0.30	1.14*	0.37	30.00***	0.85
	Ángulos	2.06**	2.66*	1.41*	6.30**	0.53
	Área	1.16*	0.00	0.85	27.10***	0.65
	Tallo	0.53**	15.39***	0.09	9.40***	0.85
	Raíz	0.89	0.12	0.75	10.50**	0.31
	No. semillas	90041.31***	363376.11***	12059.32		0.38
Fino						
Alto vs. Bajo temprano	Altura	2.83**	7.95**	0.72	0.10	0.38
	Diámetro	0.85	15.27***	0.62	2.20	0.28
	No. metámeros	0.79	0.46	0.83	19.60***	0.57
	Long. total metámeros	0.46	0.31	0.30	26.20***	0.82
	Ángulos	3.01***	1.05	0.66	3.70**	0.48
	Área	0.73	1.17	0.86	18.60	0.71
	Tallo	1.04**	4.39**	0.26	10.40***	0.71
	Raíz	0.86	0.11	1.26	3.30	0.28
	No. semillas	49999.68*	292975.21***	33932.30		0.41
Alto vs. Bajo tarde	Altura	4.38***	0.03*	0.71	0.00	0.45
	Diámetro	1.99*	4.18*	0.82	1.70	0.28
	No. metámeros	0.56	1.47	0.62	17.30***	0.58
	Long. total metámeros	0.57	0.91	0.22	29.60***	0.78
	Ángulos	1.36	0.67	2.12**	5.20**	0.46
	Área	1.75**	0.14	0.80	18.30***	0.58
	Tallo	2.68***	0.08	0.71	10.10***	0.64
	Raíz	0.92	0.40	0.72	4.80*	0.31
	No. semillas	111710.43***	15532.55	31188.07		0.42
Bajo vs. Alto temprano	Altura	3.03***	17.13***	0.66	2.70*	0.62
	Diámetro	1.39**	20.87***	0.64	16.40	0.44
	No. metámeros	0.79	1.23	0.45	13.80***	0.64
	Long. total metámeros	0.99	28.32***	0.39	27.70	0.50
	Ángulos	3.05**	0.02	0.71	2.50	0.37
	Área	0.50	0.17	0.15	30.60***	0.89
	Tallo	1.12	4.89***	0.57	18.00***	0.78
	Raíz	1.47	0.12	1.10	8.80**	0.39
	No. semillas	92677.61***	947281.84***	30652.38		0.62
Bajo vs. Alto tarde	Altura	3.10***	1.25	1.49*	5.40**	0.46
	Diámetro	1.43**	5.87**	1.57*	8.20	0.44
	No. metámeros	1.83**	0.43	1.88**	10.4***	0.63
	Long. total metámeros	0.76***	0.30	0.97***	24.2***	0.91
	Ángulos	2.05*	0.39	0.70	7.60**	0.32
	Área	0.53	0.06	0.77*	16.30***	0.76
	Tallo	1.67***	0.30	0.88**	16.10***	0.78
	Raíz	3.64***	0.94	2.90***	8.60***	0.54
	No. semillas	905793.79***	634647.43***	30216.32*		0.57

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

Tabla 4. Plasticidad (IP) de los caracteres arquitecturales y la adecuación en plantas de *Datura stramonium* sometidas a diferentes disponibilidades de agua durante la ontogenia. Coeficientes de variación para los genotipos utilizados en paréntesis. Los signos de los valores promedio de plasticidad indican la tendencia general de la respuesta.

Grano	Caracteres						
	Altura	Diámetro	Long. total metámeros	Área	Tallo	Raíz	Semillas
Grueso							
Alto vs. bajo	-15.18 ^a (27.21)	-0.62 ^{ab} (42.14)	-52.83 ^a (42.28)	-107.86 ^b (47.75)	-2.38 ^a (17.15)	-0.42 ^a (79.96)	-125.69 ^b (49.06)
Fino							
Alto vs. bajo temprano	-7.06 ^{bc} (66.21)	-0.46 ^{ab} (44.94)	-48.69 ^b (31.91)	-148.53 ^{ab} (50.21)	-1.43 ^{bc} (31.17)	-0.42 ^a (103.13)	+145.07 ^{ab} (51.15)
Alto vs. bajo tarde	-5.48 ^c (45.98)	-0.33 ^b (92.97)	-36.69 ^b (38.64)	-74.02 ^b (75.82)	-0.67 ^d (56.83)	-0.43 ^a (77.44)	+98.89 ^b (65.44)
Bajo vs. Alto temprano	+11.08 ^{ab} (57.99)	+0.83 ^a (50.20)	+33.85 ^b (32.36)	+202.51 ^a (52.83)	+1.65 ^b (32.23)	+0.63 ^a (55.79)	+217.96 ^a (49.73)
Bajo vs. alto tarde	-5.48 ^c (54.78)	+0.59 ^{ab} (132.78)	+35.05 ^b (42.33)	+123.86 ^{ab} (87.68)	+1.02 ^{cd} (53.59)	+0.59 ^a (87.48)	+183.40 ^{ab} (58.44)

^{a,b,c} Medias en la misma columna son significativamente diferentes (prueba de *t* por contrastes).

Tabla 5. Selección de la plasticidad fenotípica en ambientes con variación de grano fino y grueso en la disponibilidad de agua en el suelo en *Datura stramonium*. Análisis de regresión lineal múltiple de la adecuación (estimada como el número de semillas) como función de los caracteres medidos. Se presentan los gradientes de selección direccional lineal (β) significativos para cada tratamiento, la t de student es reportada. Resaltados se encuentran los caracteres que poseen plasticidad fenotípica (cf. Tabla 3). La varianza (r^2), valores de F y probabilidad asociada para los modelos de regresión múltiple en los diferentes ambientes fue: Alto = 0.53 ($F = 5.55$, $P < 0.0001$); Bajo = 0.71 ($F = 9.41$ $P < 0.0001$); Alto-Bajo temprano = 0.33 ($F = 1.64$, $P = 0.1480$); Alto-Bajo tarde = 0.72 ($F = 5.7$, $P = 0.0006$); Bajo-Alto temprano = 0.63 ($F = 5.26$, $P = 0.0003$); Bajo-Alto tarde = 0.63 ($F = 4.83$, $P = 0.0008$).

Grano	Carácter	β	t
Grueso			
Alto	Altura	-0.22	-2.49*
	Longitud total metámeros	-0.51	-2.76**
	Tallo	0.46	3.03**
Bajo	Altura	-0.47	-2.53*
	Diámetro	-0.42	-2.52*
	Tallo	1.52	4.04***
Fino			
Alto-Bajo temprano	Raíz	0.17	2.42*
Alto-Bajo tarde	Altura	-0.44	-3.49**
	Tallo	0.33	2.47*
Bajo-Alto temprano	Altura	-0.26	-3.23**
Bajo-Alto tarde	Altura	-0.42	-3.24**
	Longitud total metámeros	-0.81	-4.5***
	Área	0.27	2.77*
	Tallo	0.69	4.75***

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

Tabla 6. Análisis de componentes principales comunes. Descomposición de Flury para identificar el mejor modelo que describe la relación entre la estructura de los componentes principales de cada comparación ambiental. La tabla presenta una serie jerárquica de pruebas de hipótesis, el mejor modelo (resaltado) entre los cinco componentes probados corresponde al menor valor del criterio de Akaike (AIC). Se reportan los grados de libertad (g.l.) asociados a cada modelo y los tres primeros componentes por simplicidad.

Grano	Hipótesis probada	g.l.	AIC
<i>General</i>			
	1 CP común	30	273.09
	2 CP comunes	25	330.72
	3 CP comunes	20	345.43
	Resultado: 1 componente común		
Grueso			
Alto vs. bajo			
	1 CP común	6	69.05
	2 CP comunes	5	69.29
	3 CP comunes	4	66.03
	Resultado: 3 componentes comunes		
Fino			
Alto vs. bajo temprano			
	1 CP común	6	65.68
	2 CP comunes	5	66.04
	3 CP comunes	4	60.00
	Resultado: 3 componentes comunes		
Alto vs. bajo tarde			
	1 CP común	6	68.75
	2 CP comunes	5	65.87
	3 CP comunes	4	69.59
	Resultado: 2 componentes comunes		
Bajo vs. alto temprano			
	1 CP común	6	78.30
	2 CP comunes	5	74.48
	3 CP comunes	4	73.45
	Resultado: 3 componentes comunes		
Bajo vs. alto tarde			
	1 CP común	6	68.09
	2 CP comunes	5	65.40
	3 CP comunes	4	66.15
	Resultado: 2 componentes comunes		

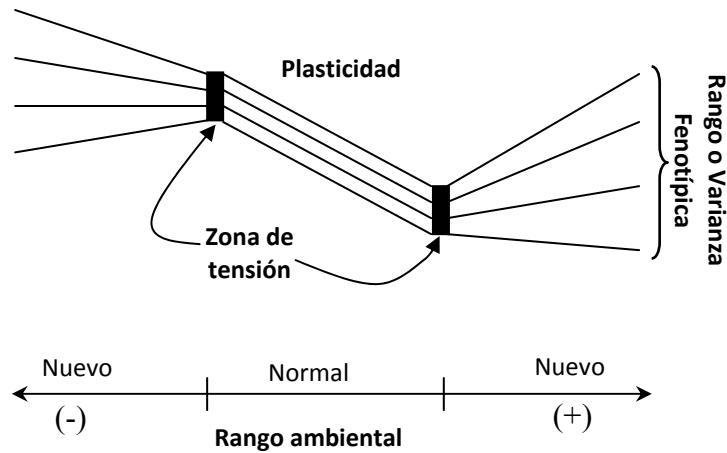


Figura 1. Normas de reacción ocultas (“hidden reaction norms”): posible relación entre la expresión de un carácter en ambientes comunes (normal) o nuevos. Obsérvese el aumento de la varianza fenotípica en nuevos ambientes. Las zonas de tensión hacen referencia a la ocurrencia de condiciones ambientales a una frecuencia que representa una frontera donde el costo / beneficio de expresar esta respuesta (plasticidad) es cercano a 1. Los ambientes nuevos pueden ser condiciones ambientales en las cuales se expusieron los organismos en una etapa temprana de la ontogenia y se miden sus respuestas en una etapa tardía, contrastándose con las condiciones normales o que no han sufrido perturbación, en cuyo caso la norma de reacción se ha denominado “impresa” (Sultan & Stearns 2005). Cada línea representa un genotipo. Modificado de Schlichting (2008).

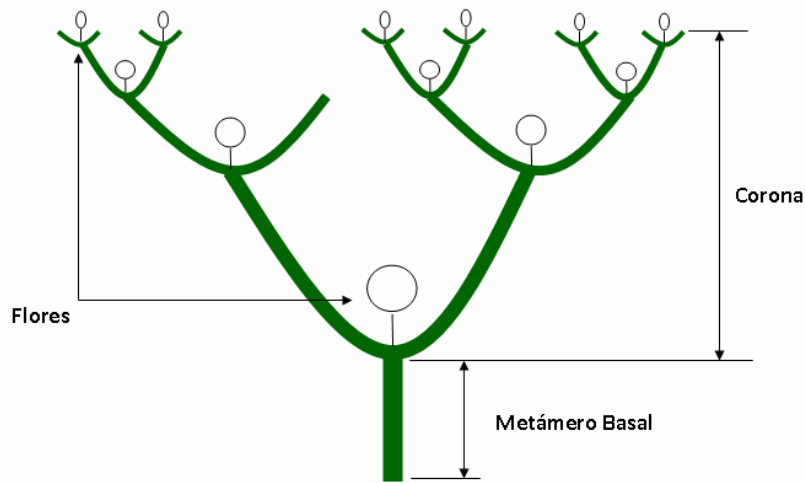


Figura 2. Esquematación del modelo arquitectural de Lewenberg en *Datura stramonium*. Dos metámeros constituyen un módulo. Los metámeros se ramifican dicotómicamente a lo largo de la altura de la planta. Al final de cada metámero y justo en la bifurcación de un nuevo módulo se produce una flor, en la figura se encuentran indicadas la primera y cuarta flor, las cuáles representan el final del crecimiento del primer (metámero basal) y cuarto metámero. La corona la constituyen todos los módulos que pueda formar una planta a lo largo de su ontogenia sin incluir el metámero basal. El modo de construcción del modelo implica una inversión simultánea a las estrategias de reproducción y crecimiento.

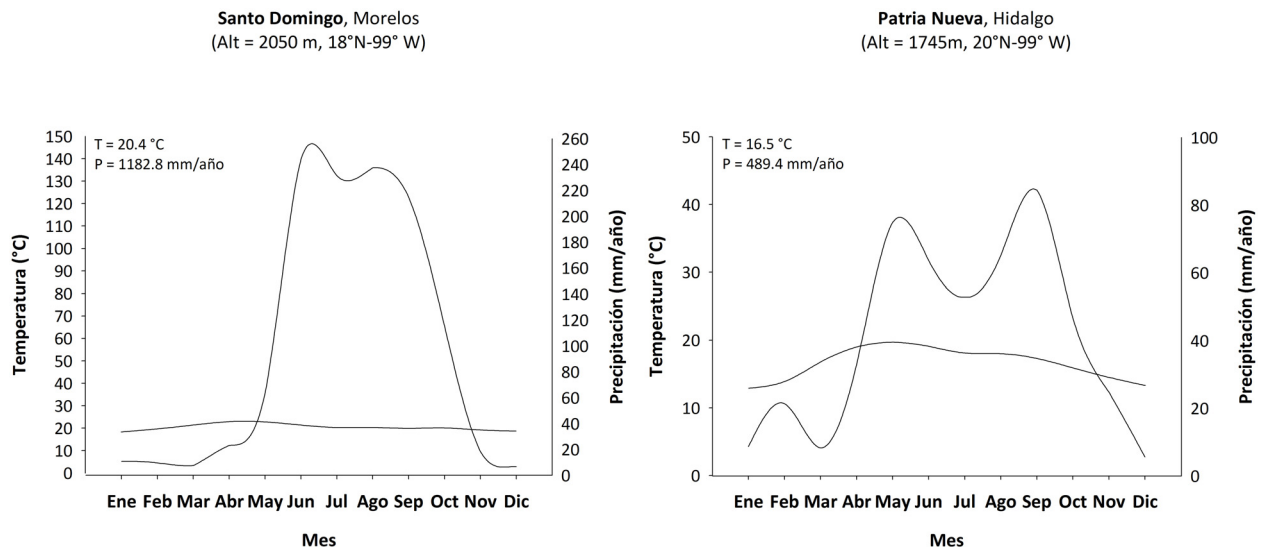


Figura 3. Condiciones climatológicas de los sitios de origen para los genotipos utilizados en este estudio, la muestra total estuvo constituida por cuatro genotipos de cada condición ambiental. En la esquina superior izquierda de cada sitio se reporta la media de temperatura y precipitación anual. Datos de la Comisión Nacional del Agua.

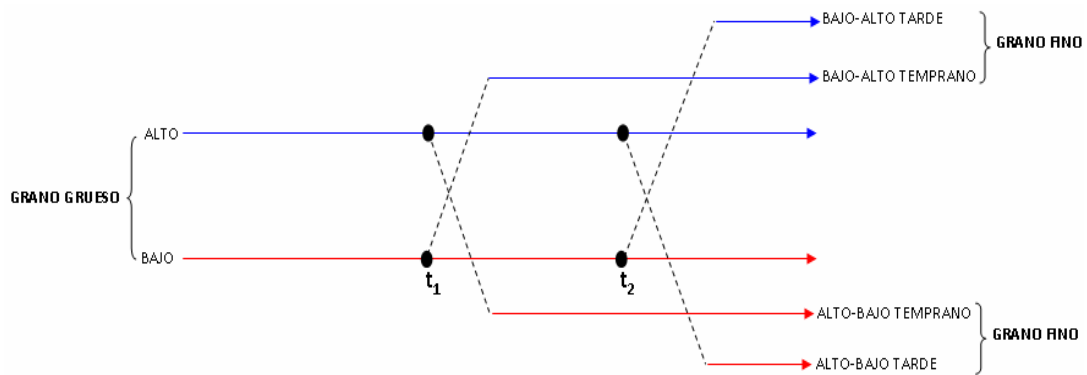


Figura 4. Seis tratamientos de disponibilidad de agua utilizados a lo largo de la ontogenia de plantas de *Datura stramonium*. Las plantas fueron sometidas a dos ambientes de grano grueso (Alto y Bajo) para la disponibilidad del recurso durante toda la vida y a cambios recíprocos de disponibilidad a partir de estos ambientes en dos momentos de la ontogenia (*i.e.*, t_1 = primera flor, t_2 = cuarta flor), generando así cuatro ambientes de grano fino (*i.e.*, Alto-Bajo temprano, Alto-Bajo tarde, Bajo-Alto temprano, Bajo-Alto tarde).

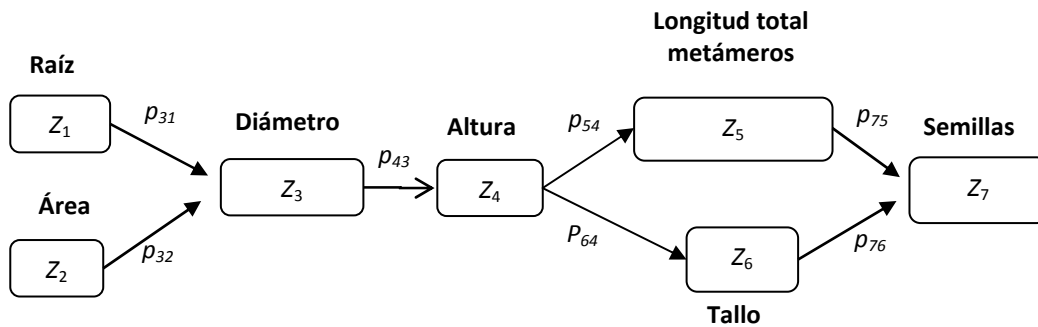


Figura 5. Modelo analítico de ruta usado para ajustar los datos en los seis tratamientos. El modelo es basado en la regla de Corner conocida como *conformidad axial* en la cual entre más grueso y masivo es el diámetro del metámero basal más grande es la corona que puede soportar y en el impedimento de que caracteres ontogenéticamente más jóvenes sean afectados por caracteres expresados más tarde en la ontogenia. Raíz = masa seca de raíz, Área = área de la corona, Diámetro = diámetro del metámero basal, Altura = altura del metámero basal, Longitud total metámeros = longitud total de los metámeros de la corona, Tallo = masa seca del tallo, Semillas = No. de semillas. Los coeficientes de ruta están indicados con P_i , la varianza debida al error no es incluida por simplicidad (se tuvo en cuenta que todas las variables fueron medidas con error).

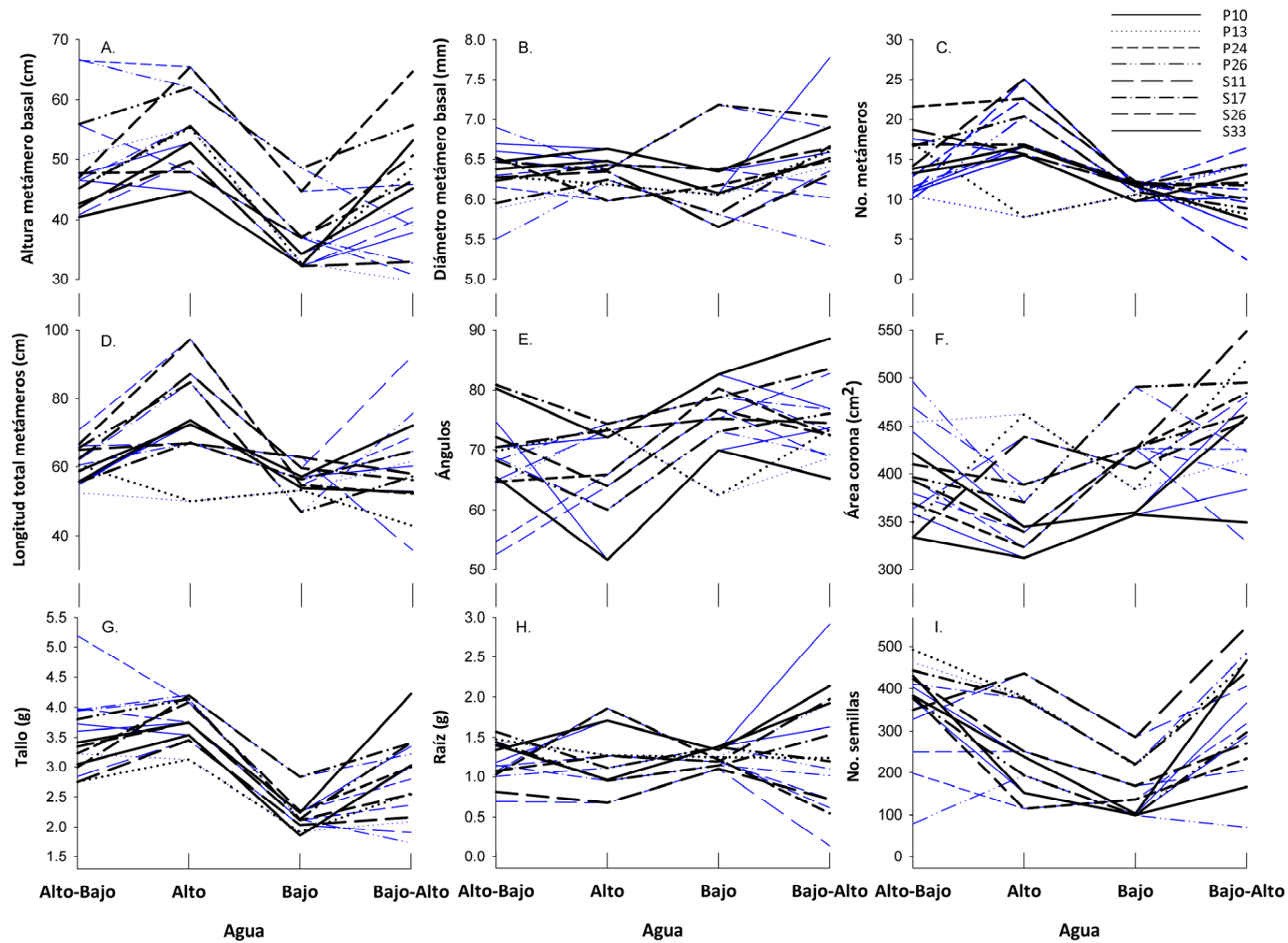
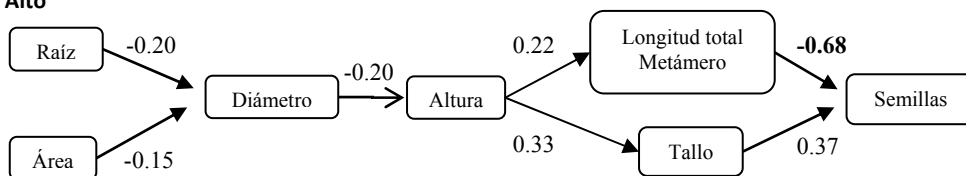


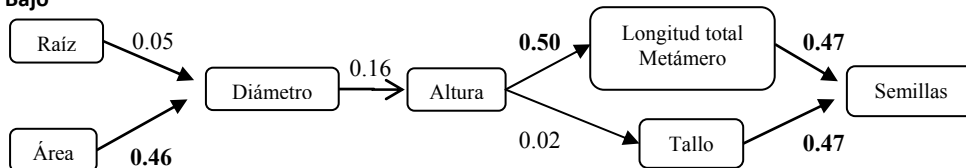
Figura 6. Normas de reacción para los caracteres en los diferentes tratamientos. Cada línea representa la media del carácter de un genotipo de *Datura stramonium* en cada ambiente. En línea azul están representados los cambios tardíos en la ontogenia. En la esquina superior derecha se reporta la leyenda de cada genotipo, P_i = Patria Nueva, S_i = Santo Domingo.

Grano grueso

Alto

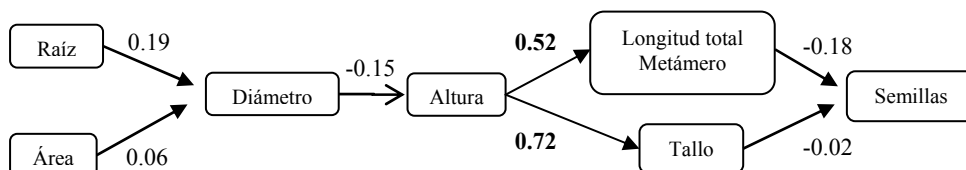


Bajo

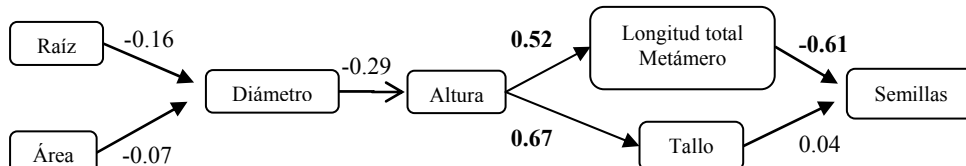


Grano fino

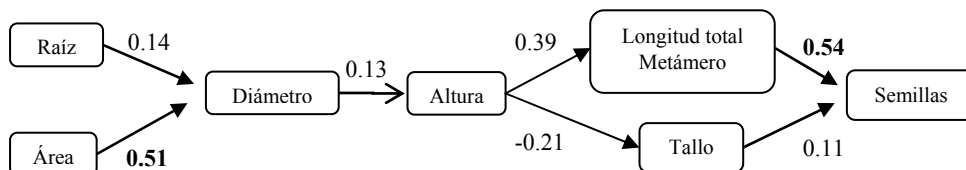
Alto-Bajo temprano



Alto-Bajo tarde



Bajo-Alto temprano



Bajo-Alto tarde

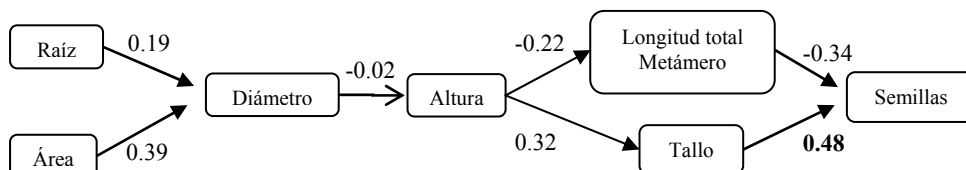


Figura 7. Coeficientes de ruta estimados para cada tratamiento según la hipótesis causal utilizada. Resaltados se encuentran los coeficientes con valores mayores a 0.4 que resultaron significativo ($P < 0.05$).

LITERATURA CITADA

- Alper, P. & Simms, E. L. 2002. The relative advantages of plasticity and fixity in different environments: When is it good for a plant to adjust? *Evolutionary Ecology* **16**:285-297.
- Andersson, S. 1996. Phenotypic selection on plant height in a segregating hybrid population of *Crepis tectorum* (Asteraceae). *International Journal of Plant Sciences* **157**:488-492.
- Baker, H. G. 1974. The evolution of weeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* **5**:1-24.
- Barthélémy, D. & Caraglio, Y. 2007. Plant Architecture: A dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Annals of Botany* **99**:375-407.
- Bazzaz, F. A. & Morse, S. R. 1991. Annual plants: Potential responses to multiple stresses. En: Mooney, H. A., Winner, W. E. & Pell, E. J. (Eds.), *Response of Plants to Multiple Stresses*, pp. 283– 305. Academic Press, New York.
- Byers, D. L. 2005. Evolution in heterogeneous environments and the potential of maintenance of genetic variation in traits of adaptive significance. *Genetica* **123**:107-124.
- Camargo, I. D. & Rodríguez-López, N. 2006. New Perspectives to Study the Biomass Allocation and its Relationship with the Functioning of Plants in Neotropical Ecosystems. *Acta Biológica Colombiana* **11**:75-87.
- Cheplick, G. P. 2002. Size and architectural traits as ontogenetic determinants of fitness in a phenotypically plastic annual weed (*Amaranthus albus*). *Plant Species Biology* **17**:71-84.

- Clausen, J., Keck, D. & Hiesey, W. M. 1940. Experimental studies on the nature of plant species. I. Effect of varied environment on western North American plants. Publication 520, Carnegie Institution of Washington, Washington, D. C., USA.
- Coleman, J.S., McConnaughay K.D.M. & Ackerley, D.D. (1994) Interpreting phenotypic variation in plants. *Trends in Ecology and Evolution* **9**: 187-191.
- Cousens, R. & Mortimer, M. 1995. *Dynamics of Weed Populations*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Dechaine, J.M., Johnston, J.A., Brock, M.T. & Weinig, C. 2007. Constraints on the evolution of adaptive plasticity: costs of plasticity to density are expressed in segregating progenies. *New Phytologist* **176**: 874-882.
- Day, K. J., Hutchings M. J. & John, E. A. 2003a. The effects of spatial pattern of nutrient supply on the early stages of growth in plant populations. *Journal of Ecology* **91**: 305–315.
- Day, K. J., Hutchings M. J., & John, E. A. 2003b. The effects of spatial pattern of nutrient supply on yield, structure and mortality in plant populations. *Journal of Ecology* **91**: 541–553.
- Diggle, P. K. 1994. The expression of andromonoecy in *Solanum hirtum* (Solanaceae): phenotypic plasticity and ontogenetic contingency. *American Journal of Botany* **81**:1354-1365.
- Donohue, K., Pyle, E. H., Messiqua, D., Heschel, M. S. & Schmitt, J. 2001. Adaptive divergence in plasticity in natural populations of *Impatiens capensis* and its consequences for performance in novel habitats. *Evolution* **55**:692–702.

- Dudley, S. A. & Smitt, J. 1996. Testing the adaptive plasticity hypothesis: density-dependent selection on manipulated stem length in *Impatiens capensis*. *The American Naturalist* **147**:445-465.
- Dworkin, I. 2005. Canalization, cryptic variation, and developmental buffering: a critical examination and analytical perspective. En: Hallgrímsson, B. & Hall, B. K. (Eds.) *Variation a Central Concept in Biology*. Elsevier Academic Press, USA.
- Engelmann, K. E. & Schlichting, C. D. 2005. Coarse- versus fine-grained water stress in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *American Journal of Botany* **92**(1):101-106.
- Fisher, RA. 1930. *The Genetical Theory of Natural Selection*. Clarendon Press, Oxford.
- Flatt, T. 2005. The evolutionary genetics of canalization. *The Quarter Review of Biology* **80**(3):287-316.
- Gedroc, J. J., McConnaughay, K.D.M & Coleman, J.S. 1996. Plasticity in root/shoot partitioning: optimal, ontogenetic, or both? *Functional Ecology* 10:44-50.
- Gianoli, E & González-Teuber, M. 2005. Environmental heterogeneity and population differentiation in plasticity to drought in *Convolvulus chilensis* (Convolvulaceae). *Evolutionary Ecology* **19**:603-613.
- Gianoli, E. 2004. Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. *International Journal of Plant Sciences* **165**: 825-832.
- Grace, J. 1997. Plant water relations. En: Crawley, M. J. (Ed.), *Plant Ecology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 28-50.

- Graham, E. A. 2009. The use of digital cameras in plant ecology and ecophysiology. En: De la Barrera, E. & Smith, W. K. (Eds.) *Perspectives in Biophysical Plant Ecophysiology*. Universidad Autónoma de México, D.F.
- Grant, B. R. & Grant, P. R. 1989. Natural selection in a population of Darwin's finches. *The American Naturalist* **133**:377-393.
- Guo, B-H., Ge, Y. & Chang, J. 2004. Phenotypic plasticity of *Mosla chinensis* and *M. scabra* (Labiatae) response to soil water status. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* **45**:229.236.
- Hallé F., Oldeman R.A.A. & Tomlinson P.B. 1978. *Tropical trees and forests*. Springer- Verlag, Berlin.
- Heldagotir, A. & Snaydon R. W. 1986. Patterns of genetic variation among populations of *Poa pratensis* L. and *Agrostis capillarias* L. from Britain and Iceland. *Journal of Applied Ecology* **23**:703-719.
- Heschel, M. S., Sultan, S. E., Glover, S. & Sloan, D. 2004. Population differentiation and plastic responses to drought stress in the generalist annual *Polygonum persicaria*. *Journal of Plant Science* **165**:817–824.
- Hunt, R. 1979. Plant growth analysis: The rationale behind the use of the fitted mathematical functions. *Annals of Botany* **43**:245-249.
- Karl, T. R. & Trenberth, K. E. 2003. Modern global climate change. *Science* **302**:1719-1723.
- Kawano, S. & Hara, T. 1995. Optimal balance between propagule output, propagule size, and cost of propagule production in plants with special reference to its evolutionary—ecological implications. *Plant Species Biology* **10**: 119–125.

- van Kleunen, M., Fischer, M. & Johnson, S. D. Reproductive assurance through self-fertilization does not vary with population size in the alien invasive plant *Datura stramonium*. *Oikos* **116**(8):1400-1412.
- Lande, R. & Arnold, S. J. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* **37**:1210–1226.
- Larcher, W. 2003. *Physiological Plant Ecology*. 4th ed. Springer, Berlin.
- Levins, R. 1962. Theory of fitness in a heterogeneous environment. I. The fitness set and adaptive function. *The American Naturalist* **96**:361-373.
- Levins, R. 1968. *Evolution in changing environments*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- McPeck, M. A. 1997. Measuring phenotypic selection on an adaptation: Lamellae of damselflies experiencing dragonfly predation. *Evolution* **51**:459-466.
- Moran, N. A. 1992. The evolution of aphid life-cycles. *Annual Review of Entomology* **37**:321–348.
- Niklas, K. J. 1994 *Plant Allometry: The Scaling of Form and Process*. University of Chicago Press, Chicago.
- Núñez-Farfán, J. S. 1991. Biología evolutiva de *Datura stramonium* L. en el centro de México: selección natural de la resistencia a los herbívoros, sistema de cruzamiento y variación genética intra e interpoblacional. Tesis para doctoral. Universidad Autónoma de México, D. F.
- Núñez-Farfán, J. & Schlichting, C. D. 2001. Evolution in changing environments: The synthetic work of Clausen, Keck and Hiesey. *Quarterly Review of Biology* **76**(4):433-457.

- Olson, M. E., Aguirre-Hernandez, R. & Rosell J. A. 2009. Universal foliage-stem scaling across environments and species in dicot trees: plasticity, biomechanics and Corner's Rule. *Ecology Letters* **12**:210-219.
- Phillips, P. C. & Arnold, S. J. 1999. Hierarchical comparison of genetic variance-covariance matrices. I. using the Flury hierarchy. *Evolution* **53**:506-515.
- Pigliucci, M., Cammell, K. & Schmitt, J. 1999. Evolution of phenotypic plasticity a comparative approach in the phylogenetic neighborhood of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Evolutionary Biology* **12**:779-791.
- Pigliucci, M. & Kaplan, J. 2006. *Making Sense of Evolution: The Conceptual Foundations of Evolutionary Biology*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Pigliucci, M. & Kolodnynska, A. 2006. Phenotypic integration and response to stress in *Arabidopsis thaliana*: A path analytical approach. *Evolutionary Ecology Research* **8**:414-433.
- Pigliucci, M. & Schlichting, C.D. 1996. Reaction norms of *Arabidopsis*. IV. Relationships between plasticity and fitness. *Heredity* **76**: 427-436.
- Pigliucci, M. 2001. *Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture*. (Syntheses in Ecology and Evolution) The Johns Hopkins University Press. Baltimore and London.
- Richards, C. L., Bossdorf, O., Muth, N. Z., Gurevitch, J. & Pigliucci, M. 2006. Jack of all trades, master of some? On the role of phenotypic plasticity in plant invasions. *Ecology Letters* **9**:981-993.

- Ryser, P. & Eek, L. 2000. Consequences of phenotypic plasticity vs. interspecific differences in leaf and root traits for acquisition of aboveground and belowground resources. *American Journal of Botany* **87**:402-411.
- Scheiner, S. M., Callahan, H. S. 1999. Measuring natural selection on phenotypic plasticity. *Evolution* **53**: 1704-1713.
- Scheiner, S. M., 2002. Selection experiments and the study of phenotypic plasticity. *Journal of Evolutionary Biology* **15**:889–898.
- Schlichting, C. D. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **17**:667-693.
- Schlichting, C. D. 2008. Hidden reaction norms, cryptic genetic variation, and evolvability. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1133**:187-203.
- Schlichting, C. D., & Pigliucci, M. 1998. *Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Sharma, M. 1972. Studies in the flower of *Datura stramonium* L. in relation to bee-botany. *Journal of Palinology* **8**:17-21.
- Shipley, B. 2000a. *Cause and correlation in Biology, a User's Guide to Path Analysis, Structural Equations and Causal Inference*. Cambridge U. Press, Cambridge.
- Shipley, B. 2000b. The causal toolbox: a collection of programs for testing or exploring causal relationships. Université de Sherbrooke, Sherbrooke (Québec, Canada). Disponible en: <http://pages.usherbrooke.ca/jshipley/recherche/my%20book.htm>.
- Shulze, E., Robichaux, R. H., Grace, J., Rundel, P.W. & Ehleringe, R. 1987. Plant water balance. *BioScience* **37**:30-37.

- Straton, D. A. 1992. Life-cycle component of selection in *Erigeron annuus*: I. Phenotypic selection. *Evolution* **46**:92-106.
- Sultan, S. E. 2001. Phenotypic plasticity for fitness components in *Polygonum* species of contrasting ecological breadth. *Ecology* **82**:328–343.
- Sultan, S. E. & Stearns, S. C. 2005. Environmentally contingent variation: Phenotypic plasticity and norms of reaction. En: Hallgrímsson, B. & Hall, B. K. (Eds.) *Variation a Central Concept in Biology*. Elsevier Academic Press, USA.
- Symonides, E. 1988. On the ecology and evolution of annual plants in disturbed environments. *Vegetatio* **77**: 21-31.
- Valladares, F., Martínez-Ferri, E., Balaguer, L., Pérez-Corona, E. & Manrique, E. 2000. Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? *New Phytologist* **148**: 79-91.
- Via, S. & Lande, R. 1985. Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* **39**:505–522.
- Waddington, C. H. 1952. Selection for the basis of an acquired character. *Nature* **169**:262.
- Waddington, C. H. 1953. Genetic assimilation of an acquired character. *Evolution* **7**(2):118-126.
- Waitt, D. E. & Levin, d. A. 1993. Phenotypic integration and plastic correlations in *Phlox drummondii* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany* **80**:1224-1233.
- Weave, S. E. & Warwick, S. I. 1984. The biology of Canadian weeds. 64. *Datura stramonium* L. *Canadian Journal of Plant Science* **64**:979-991.

Wijesinghe, D. A. & Hutchings, M. J. 1999. The effects of environmental heterogeneity on the performance of *Glechoma hederacea*: the interactions between patch contrast and patch scale. *Journal of Ecology* **87**: 860–872.

Yepes, E. A. & Williams, D. G. 2009. Precipitation pulses and ecosystem carbon and water exchange in arid and semi-arid environments. En: De la Barrera, E. & Smith, W. K. (Eds.) *Perspectives in Biophysical Plant Ecophysiology*. Universidad Autónoma de México, D.F.